

10/ 529, 897

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2004 年 4 月 15 日 (15.04.2004)

PCT

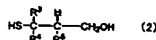
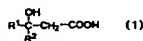
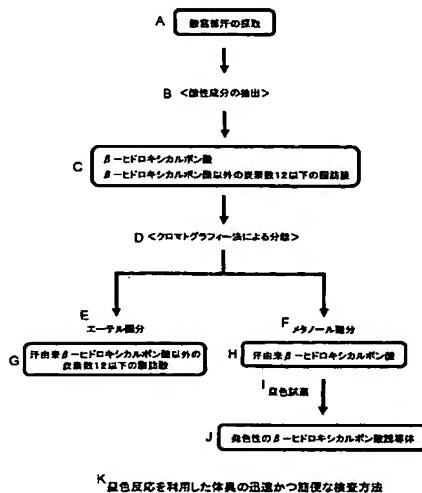
(10) 国際公開番号
WO 2004/031766 A1

- (51) 国際特許分類: G01N 33/497, 33/15, C11B 9/00, A61K 7/46
(21) 国際出願番号: PCT/JP2003/012793
(22) 国際出願日: 2003 年 10 月 6 日 (06.10.2003)
(25) 国際出願の言語: 日本語
(26) 国際公開の言語: 日本語
(30) 優先権データ:
特願2002-293104 2002 年 10 月 4 日 (04.10.2002) JP
特願2003-83801 2003 年 3 月 25 日 (25.03.2003) JP
(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 花王株式会社 (KAO CORPORATION) [JP/JP]; 〒103-8210 東京都中央区日本橋茅場町1丁目14番10号 Tokyo (JP).
(72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 矢吹 雅之 (YABUKI, Masayuki) [JP/JP]; 〒131-8501 東京都墨田区文花2-1-3 花王株式会社研究所内 Tokyo (JP). 長谷川 義博 (HASEGAWA, Yoshihiro) [JP/JP]; 〒131-8501 東京都墨田区文花2-1-3 花王株式会社研究所内 Tokyo (JP). 松金 正元 (MATSUKANE, Masamoto) [JP/JP]; 〒

[続葉有]

(54) Title: INDICATOR FOR ASSESSING BODY ODOR, PROCESS FOR PRODUCING THE SAME, BODY ODOR ASSESSMENT METHOD, METHOD OF ASSESSING EFFICACIOUSNESS OF DEODORANT AND KIT FOR CONVENIENTLY ASSESSING BODY ODOR

(54) 発明の名称: 体臭判定用指標物質、その製造方法、体臭判定方法、デオドラント剤の有効性判定方法、体臭の簡易判定キット



- A...COLLECTING UNDERARM PERSPIRATION
B...EXTRACTING ACIDIC COMPONENTS
C...β-HYDROXYCARBOXYLIC ACID
C₁₂ OR LESS FATTY ACIDS OTHER THAN β-HYDROXYCARBOXYLIC ACID
D...CHROMATOGRAPHIC SEPARATION
E...ETHER FRACTION
F...METHANOL FRACTION
G...PERSPIRATION-ORIGIN C₁₂ OR LESS FATTY ACIDS OTHER THAN β-HYDROXYCARBOXYLIC ACID
H...PERSPIRATION-ORIGIN β-HYDROXYCARBOXYLIC ACID
I...COLOR-DEVELOPING REAGENT
J...COLOR-DEVELOPING β-HYDROXYCARBOXYLIC ACID DERIVATIVE
K...QUICK AND CONVENIENT EXAMINATION METHOD USING COLOR-DEVELOPMENT REACTION

(57) Abstract: An indicator for assessing body odor containing at least one member selected from the group consisting of: a component (A) which is a β-hydroxycarboxylic acid compound represented by the following general formula (1); a component (B) which is a derivative of the above compound represented by the general formula (1); a component (C) which is an alcohol compound having a mercapto group at the 3-position as represented by the following general formula (2); and a component (D) which is a derivative of the above compound represented by the general formula (2). Also it is intended to provide a process for producing the above compound represented by the general formula (2) which comprises incubating human-origin perspiration in an environment with an oxygen concentration of 10 v/v% or below. Further, it is intended to provide a kit for assessing human body odor which contains a color developing reagent reacting with a human perspiration-origin β-hydroxycarboxylic acid. General formula (1) wherein R¹ represents C₁₋₄ alkyl; and R² represents hydrogen or C₁₋₄ alkyl, provided that the total carbon atom number is not more than 10. General formula (2) wherein R³ represents hydrogen or methyl; R⁴ represents C₁₋₃ alkyl; and R⁵ represents hydrogen or methyl, provided that the total carbon atom number is not more than 8.

[続葉有]

WO 2004/031766 A1



131-8501 東京都 墨田区 文花2-1-3 花王株式会社研究所内 Tokyo (JP). 矢部 恵美 (YABE, Eml) [JP/JP]; 〒131-8501 東京都 墨田区 文花2-1-3 花王株式会社研究所内 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 岸本 達人, 外(KISHIMOTO, Tatsuhito et al.); 〒104-0031 東京都 中央区 京橋一丁目16番10号 オークビル京橋4階 東京セントラル特許事務所内 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

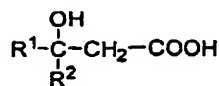
- 国際調査報告書
- 請求の範囲の補正の期限前の公開であり、補正書受領の際には再公開される。

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(57) 要約:

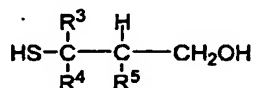
本発明の体臭判定用指標物質は、成分(A): 下記式(1)で表されるβ-ヒドロキシカルボン酸化合物、成分(B): 前記式(1)で表される化合物の誘導体、成分(C): 下記式(2)で表される3位にメルカプト基を有するアルコール化合物、及び、成分(D): 前記式(2)で表される化合物の誘導体よりなる群から選ばれる少なくとも一つを含有する。本発明は、人由来の汗を酸素濃度10v/v%以下の環境下にてインキュベーションし、上記式(2)で表される化合物を生産する方法も提供する。また本発明は、人の汗由来β-ヒドロキシカルボン酸と反応する呈色試薬を含む人の体臭判定キットも提供する。

式(1)



(式中、R¹は炭素数1乃至4のアルキルであり、R²は水素原子又は炭素数1乃至4のアルキルであり、総炭素数が10以下である。)

式(2)



(式中、R³は水素原子またはメチル基、R⁴は炭素数1乃至3のアルキル基、R⁵は水素原子またはメチル基であり、総炭素数が8以下である。)

明 細 書

体臭判定用指標物質、その製造方法、体臭判定方法、デオドラント剤の有

5 効性判定方法、体臭の簡易判定キット

技術分野

本発明は、体臭の判定に用い得る指標物質、及び、それを用いて体臭の程度又はデオドラント剤の有効性を判定する方法に関する。

- 10 また、本発明は、人の汗由来 β -ヒドロキシカルボン酸等を呈色試薬と反応させる呈色試薬を含む判定キット及び判定方法に関する。

背景技術

- 近年、清潔志向の高まりに伴い、体臭を気にする人が増えている。体臭は全身の各部から発生する匂いの総称であり、主要な発生部位としては頭部、口腔、腋窩部、陰部、足の裏等がある。なかでも腋臭（腋窩部の匂い）は本人又はそばに居る人に感知され易いため、その程度、例えば腋臭の有無、強さ、質的な相違等の諸要素が、全身的な体臭の程度を支配することが多い。更に、本人又はそばに居る人にとって、体臭と言うよりは腋臭そのものが気にかかる場合も
- 20 多い。

- 人間の腋窩部には、ほぼ全身に分布するエクリン汗腺だけでなく、アポクリン汗腺と呼ばれる特殊な汗腺が存在している。ヒトの腋窩部は汗が蒸散しにくい部位であり、細菌が増殖しやすい部位でもあるために、これら2つの汗腺から分泌された汗（エクリン汗およびアポクリン汗）や皮脂、垢等が皮膚上の細菌によって代謝されて、匂いが発生しやすい。
- 25

エクリン汗が原因となる匂いは、低級脂肪酸臭、又は単に酸臭と呼ばれ、炭素数

2～5の低級カルボン酸に起因する、酸っぱくて、蒸れた匂い（以下、低級脂肪酸臭又は酸臭と呼ぶ）である。また、この匂いは、腋の下だけでなく、全身の皮膚表面から発生している。一方、アポクリン汗に由来する匂いは、いわゆる、わきが体質と言われる人の腋窩部から発生し、アポクリン臭とか、単に“腋臭（わきが）”と呼ばれて区別されている。アポクリン臭は鼻を突く、腋窩部に特有の匂いであり、本人又はそばに居る人に特に感知され易い。実際の腋臭には個体差があり、酸臭、アポクリン臭及びこの両者の混合臭に大別される。

わきが体質の人は、腋窩部のアポクリン汗腺の数が多い傾向があり、エクリン汗が原因で発生する酸臭とアポクリン臭が混じり合って、強くて独特な匂いを形成している。そこで、自己の腋臭が気になる場合には、制汗作用や殺菌作用のあるデオドラント剤を使用するか、アポクリン臭が極端に強い場合には、腋窩部のアポクリン汗腺を外科的に取り去ることで、匂いを減ずる試みが行われる。

従って、体臭又は腋臭を気にする人、家庭や学校、会社などで他人に体臭を指摘されたことがある人、また、たとえ自分では気がつかないレベルであっても、美容師や歯科医師のようにわきの部分が他人の顔面の近くにくるような職業に就いている人は、自己の腋窩部にアポクリン臭が元々どの程度あるのか、さらにはデオドラント剤の使用やアポクリン汗腺の除去手術等の体臭を軽減する努力が現状において功を奏しているのかということが重要な関心事である。

従来、体臭、特にアポクリン臭の判定方法としては、（１）第三者が腋窩部の汗の匂いを鼻で嗅いで判断する官能評価試験、（２）家族内にわきが体質の人が居るかどうかといった遺伝情報、耳垢が湿っている、肌着の腋窩部に当る部分が汗で色づく等のアポクリン臭と関連性があると言われている事実から推定する経験的な判定方法、（３）アポクリン汗腺の数や大きさから推定する方法等がある。

（１）の方法は、まず熟練した皮膚科医などの専門パネリストを必要とし、手軽に実施できない。またその方法は、被験者の腋の匂いを脱脂綿などで拭き取って嗅ぎ、アポクリン臭の程度を官能的に判定するものであるが、本方法は

評価者の主観的判断が入る余地が大きく、定量的な判断が難しい。さらに連続的に評価する場合には、嗅覚の疲労により、客観性が低下する恐れがある。

(2)の方法は、遺伝的素質による判断、耳垢の湿り具合との相関による間接的な判断である。肌着の色づき具合による判断は、アポクリン腺の汗に含まれる色素に着目しているが、腋窩部のアポクリン臭を直接評価しているわけではなく、間接的な判定方法である。

従って、限られた評価項目だけでは、誤った判定をする恐れがあり、顕在化してこない腋臭を見逃す可能性がある。また、このような調査は、腋臭体質の有無を判断する目安にはなるが、非定量的であり判定しにくいいため、アポクリン腺の除去手術による腋臭改善状況や、手術後のアポクリン腺の再生によるアポクリン臭の再発の有無及びその程度、デオドラント剤による消臭又はマスキングの効果の度合い等を判断するには正確性に欠け、実用的でない。

(3)の方法は、医師が腋窩部を外科的に切開してアポクリン汗腺の数や大きさを観察し、その様子から体臭の程度を推定する方法であるが、被験者にとって、精神的および肉体的苦痛が大きく、簡単に実施できる方法ではない。また一般に手術費用は高額である。

「味と匂いの分子認識」(化学総説 No.40, 1999年, p.205-211)には、わきの下に特徴的な匂い成分として、わきの下の汗には、trans-3-メチル-2-ヘキセン酸、7-オクテン酸等が含まれている旨の記載がある。

特開平10-25265号公報には、特定の β -ヒドロキシカルボン酸又はその塩をアニマル系香料素材として用いることが記載されている。

一方、特開2000-95753号公報には、3位にチオール基を有する化合物がフレーバリング成分としてクラリセージ様の極めて強力な匂い付与効果を有すると記載されている。

特開2001-2634号公報には、3位にメルカプト基を有するアルコール化合物として3-メルカプト-3-メチル-ヘキサン-1-オールおよび3

ーメルカプトー 2ーメチルーブタンー 1ーオールが開示されている。これらは、フレーバーリング成分として 3ーメルカプトー 3ーメチルーヘキサナー 1ーオールは、S 体が草様、田舎風の匂い、R 体がグレープフルーツ／パッションフルーツ、スグリ、玉葱様の匂いを有し、3ーメルカプトー 2ーメチルーブタンー 1ーオールは草様、リーキ様及びガス様の特徴を有すると記載されている。

独国公開公報第 2 3 1 6 4 5 6 号には 3ーメルカプトアルコールならびに、それらのギ酸及び酢酸エステルが、広範囲のフレーバー組成物の調製および修飾に有用な発臭剤およびフレーバー剤として記載されており、玉葱様、硫黄様の、汗様の匂いを有すると記載されている。

特開 2 0 0 3ー1 2 6 3 7 号には、フレーバー成分及び／又はフレーバーエッセンサーとして使用するためのチオ誘導体が記載されており、ブラックカラント、玉葱様、グレープフルーツの匂いを思わせるものとして記載されている。

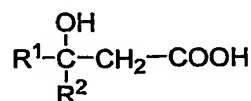
しかしながら、 β ーヒドロキシカルボン酸及び／又はその誘導体と、3 位にメルカプト基を有するアルコール化合物及び／又はその誘導体のいずれも、ヒトの体臭との関係、特に体臭の原因物質や人の腋臭の構成成分としては認知されていなかった。そのため、ヒトの体臭、特に腋窩部のアポクリン臭の有無又は強弱を客観的且つ定量的に判定することができなかった。

また、人の腋窩部には、従来、アポクリン臭の特徴成分としては、transー 3ーメチルー 2ーヘキセン酸、7ーオクテン酸に代表される炭素数 6 ～ 1 0 の不飽和カルボン酸だけでなく、酸臭の原因となる炭素数 5 以下の低級カルボン酸や皮脂由来の高級カルボン酸も混在しており、これら多種多様の酸性成分の中からアポクリン臭の特徴成分である前述の不飽和カルボン酸のみを選択的に分離することは困難であった。

本発明は、下記成分(A)、成分(B)、成分(C)及び、成分(D)よりなる群から選ばれる少なくとも一つを含有する体臭判定用指標物質を提供する。

(A) 下記式(1)で表されるβ-ヒドロキシカルボン酸化合物

式(1)

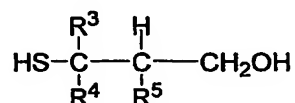


(式中、R¹は炭素数1乃至4のアルキルであり、R²は水素原子又は炭素数1乃至4のアルキルであり、式(1)の総炭素数が10以下である。)

(B) 前記式(1)で表されるβ-ヒドロキシカルボン酸化合物のヒドロキシル基及び／又はカルボキシル基に原子又は原子団を導入してなるβ-ヒドロキシカルボン酸誘導体

(C) 下記式(2)で表される3位にメルカプト基を有するアルコール化合物

式(2)



(式中、R³は水素原子またはメチル基、R⁴は炭素数1乃至3のアルキル基、R⁵は水素原子またはメチル基であり、式(2)の総炭素数が8以下である。)

(D) 前記式(2)で表される3位にメルカプト基を有するアルコール化合物のメルカプト基及び／又はヒドロキシル基に原子又は原子団を導入してなる3位にメルカプト基を有するアルコール化合物の誘導体

15

発明の詳細な説明

本発明は、体臭の中でも特に気にする人が多い腋窩部のアポクリン臭の有無及び

強弱を客観的且つ定量的に判定すること を可能とする指標物質、及び、指標物質を用いて体臭の程度又はデオドラント剤の有効性を判定する方法を提供する。また、本発明は、体臭の判定をより簡単かつ正確に行うための指標物質の生産方法を提供する。さらに、本発明は、体臭のタイプ及び匂いの程度を確実に迅速かつ簡単に判定することが可能な体臭判定キット、及びそれを用いて体臭を判定する方法を提供する。

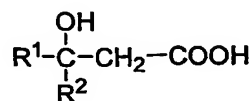
本発明者らは、腋の下の汗に含まれるアポクリン臭の原因成分について鋭意研究を行ったところ、アポクリン臭に極めて良く似ており、且つアポクリン臭のある人の汗に特異的に存在し、そのままの状態あるいはインキュベーションによって、正確に定量し得る濃度を有し、さらに、簡単な化学操作により単離可能な成分が汗の中に存在することを発見し、その成分を腋窩部のアポクリン臭の程度を定量的に判定する客観的な指標として利用することができるようにした。

また、それらの成分は、分析感度及び／又は判定の正確性を高めるために、様々な標識物質を導入することができ、誘導体化された指標物質は、体臭の判定及びデオドラント剤の有効性判定に好適に用いられる。

本発明により提供される体臭判定用指標物質は、下記成分（A）、成分（B）、成分（C）及び、成分（D）よりなる群から選ばれる少なくとも一つを含有する指標物質である。

（A）下記式（1）で表されるβ-ヒドロキシカルボン酸化合物

式(1)



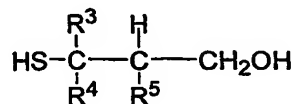
（式中、R¹は炭素数1乃至4のアルキルであり、R²は水素原子又は炭素数1乃至4のアルキルであり、式（1）の総炭素数が10以下である。）

（B）前記式（1）で表されるβ-ヒドロキシカルボン酸化合物のヒドロキシル

基及び／又はカルボキシル基に原子又は原子団を導入してなるβ-ヒドロキシカルボン酸誘導体

(C) 下記式(2)で表される3位にメルカプト基を有するアルコール化合物

式(2)



(式中、R³は水素原子またはメチル基、R⁴は炭素数1乃至3のアルキル基、R⁵

5 は水素原子またはメチル基であり、式(2)の総炭素数が8以下である。)

(D) 前記式(2)で表される3位にメルカプト基を有するアルコール化合物のメルカプト基及び／又はヒドロキシシル基に原子又は原子団を導入してなる3位にメルカプト基を有するアルコール化合物の誘導体

また、本発明により提供される体臭の判定方法及びデオドラント剤の有効性判定方法
10 法は、上記成分(A)、成分(B)、成分(C)及び、成分(D)よりなる群から選ばれる少なくとも一つを指標成分として用いて、体臭の程度又はデオドラント剤の有効性を判定する方法である。成分(A)(B)(C)及び(D)のなかから二種以上の指標成分を選択して用いる場合には、選択された全ての成分を含有する指標物質を用いても良いし、選択された各指標成分を判定手順の過程において別個に
15 用いても良い。また、一連の判定手順において、選択された指標成分のうち一部を混合して用い、混合しなかった成分は単体のまま用いても良い。

本発明においては、上記成分(A)(B)(C)及び(D)のなかから1種のみ
20 選んで使用しても良いし、二種以上の指標成分を任意に選び、組み合わせて使用しても良い。例えば、次のような単独の又は組み合わせによる使用を行うことができる。

(1) 成分(A)及び／又は成分(B)よりなる群から選ばれる少なくとも一種の指標成分。

成分（Ａ）、すなわち式（１）で表されるβ-ヒドロキシカルボン酸化合物は、特にクミン油様のアポクリン臭を評価するために有効である。成分（Ｂ）は成分（Ａ）の誘導体であり、分析感度及び／又は判定の正確性を高めるために成分（Ａ）に換えて好適に用いられるが、成分（Ａ）と組み合わせて用いて

5 も良い。

（２）成分（Ｃ）及び／又は成分（Ｄ）よりなる群から選ばれる少なくとも一種の指標成分。

成分（Ｃ）、すなわち式（２）で表される３位にメルカプト基を有するアルコール化合物は、特に硫黄様のアポクリン臭を評価するために有効である。成

10 分（Ｄ）は成分（Ｃ）の誘導体であり、分析感度及び／又は判定の正確性を高めるために成分（Ｃ）に換えて好適に用いられるが、成分（Ｃ）と組み合わせて用いても良い。

（３）成分（Ａ）及び／又は成分（Ｂ）よりなる群から選ばれる少なくとも一種の指標成分と、成分（Ｃ）及び／又は成分（Ｄ）よりなる群から選ばれる少なく

15 とも一種の指標成分の組み合わせ。

成分（Ａ）及び／又は（Ｂ）群の指標成分と、成分（Ｃ）及び／又は（Ｄ）群の指標成分とを組み合わせるにより、クミン油様のアポクリン臭と硫黄様のアポクリン臭のいずれも評価可能で、より実際のアポクリン臭に近い評価が可能である。

20 （４）成分（Ａ）よりなる群から選ばれる少なくとも一種の指標成分と、成分（Ｃ）よりなる群から選ばれる少なくとも一種の指標成分の組み合わせ。

誘導体化されていない指標成分同士の組み合わせであり、分析又は評価の方法によっては、誘導体を用いるよりも適している場合がある。

（５）成分（Ｂ）よりなる群から選ばれる少なくとも一種の指標成分と、

25 成分（Ｄ）よりなる群から選ばれる少なくとも一種の指標成分の組み合わせ。

誘導体化された指標成分同士の組み合わせであり、匂いの程度を官能評価に

より直接判定する以外の方法で分析又は評価することが可能となり、分析感度及び／又は判定の正確性を高めることも可能である。

また、本発明により提供される指標物質の生産方法は、人由来の汗を酸素濃度 10 v/v% 以下の環境下にてインキュベーションすることにより、前記式 (2) で表
5 される 3 位にメルカプト基を有するアルコール化合物を生産する方法である。

人由来の汗を嫌気性または微好気性環境下でインキュベーションし、3 位にチオール基を有するアルコール化合物を多量に生産することによって、体臭の判定及びデオドラント剤の有効性判定をより行い易くし、またより正確性の高いものとする
ことができる。

10 さらに本発明者らは、アポクリン臭の主要な原因物質として新たに見出された 3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサノ酸を含む β -ヒドロキシカルボン酸を腋窩部の汗から分離した後、呈色試薬と反応させて、発現された色によって、アポクリン臭の程度を簡単に判定できる点に着目し、アポクリン臭そのものの
15 程度、又は、アポクリン臭を中心とした総合的な体臭の程度を確実に簡単に判定できるキット及び該キットを用いた体臭判定方法を開発した。

本発明により提供される判定キットは、人の汗由来 β -ヒドロキシカルボン酸及び／又は前記 β -ヒドロキシカルボン酸以外の炭素数 12 以下の脂肪酸と反応する呈色試薬を含む人の体臭判定キットである。人間の汗由来の体臭の程度を、アポクリン臭の原因物質である β -ヒドロキシカルボン酸、及び、酸臭
20 の原因物質である該 β -ヒドロキシカルボン酸以外の炭素数 12 以下の脂肪酸を呈色試薬と反応させることにより、発現された色によって、匂いのタイプ及び匂いの強さを確実に迅速かつ簡単に判定することを可能にした。

前記本発明のキットを用いる第一の体臭判定方法は、人の汗に含まれる β -ヒドロキシカルボン酸及び前記 β -ヒドロキシカルボン酸以外の炭素数 12 以下の脂肪酸の混合物を抽出する第 1 ステップと、
25

前記混合物に前記キットの試薬を加えて発色させる第 2 ステップと、

前記第2ステップにおいて発色した色によって体臭のタイプ及び／又はその強さを判定する第3ステップとを含む、人の体臭を判定する方法である。

また、前記本発明のキットを用いる第二の体臭判定方法は、人の汗に含まれるβ-ヒドロキシカルボン酸及び前記β-ヒドロキシカルボン酸以外の炭素数12以下の脂肪酸の混合物を抽出する第1ステップと、

前記混合物からβ-ヒドロキシカルボン酸を分離する第2ステップと、

前記第2ステップにおいて分離されたβ-ヒドロキシカルボン酸に前記試薬を反応させて発色させる第3ステップと、

前記第3ステップにおいて発現された色によって体臭のタイプ及び／又はその強さを判定する第4ステップとを含む、人の体臭を判定する方法である。

さらに、前記本発明のキットを用いる第三の体臭判定方法は、人の汗に含まれるβ-ヒドロキシカルボン酸及び前記β-ヒドロキシカルボン酸以外の炭素数12以下の脂肪酸の混合物を抽出する第1ステップと、

前記混合物をβ-ヒドロキシカルボン酸と前記β-ヒドロキシカルボン酸以外の炭素数12以下の脂肪酸とに、それぞれ分離する第2ステップと、

前記第2ステップにおいて分離されたβ-ヒドロキシカルボン酸に前記キットの試薬を反応させて発色させる第3ステップと、

前記第2ステップにおいて分離されたβ-ヒドロキシカルボン酸以外の炭素数12以下の脂肪酸に前記キットの試薬を反応させて発色させる第4ステップと、

前記第3ステップ及び第4ステップにおいて発現された色によって体臭のタイプ及び／又はその強さを判定する第5ステップとを含む、人の体臭を判定する方法である。

図面の簡単な説明

図1は、アポクリン臭を持つ人の汗の酸性抽出物をGC-MS分析した結果を示す溶出ピークである。

図2は、アポクリン臭を持たない人の汗の酸性抽出物をGC-MS分析した結果を示す溶出ピークである。

図3は、腋窩部の汗に含まれる3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサノ酸の量

と、アポクリン臭の強さの関係を示す グラフである。

図 4 は、アポクリン臭を持つ人の汗を G C - M S 分析した結果を示す。

図 5 は、アポクリン臭を持たない人の汗を G C - M S 分析した結果を示す。

図 6 は、アポクリン臭を持つ人の汗をインキュベーションした後、G C - M
5 S 分析した結果を示す。

図 7 は、アポクリン臭を持たない人の汗をインキュベーションした後、G C
- M S 分析した結果を示す。

図 8 は、体臭の程度を判定する手順を示した図である。

図 9 は、吸着カラムクロマトグラフィー法を利用して体臭の程度を判定する
10 際の判定キットの使用方法を示した図である。

図 1 0 は、薄層クロマトグラフィー法を利用して体臭の程度を判定する際の
判定キットの使用方法を示した図である。

図 1 1 は、アポクリン臭強度（官能評価）と呈色反応後の試験液の色差との
関係を示した図である。

15 図 1 2 は、呈色反応後のメタノール画分とエーテル画分の吸光度を示した図
である。

以下において本発明を詳しく説明する。なお、本明細書において引用された
文献の内容は、参照されることにより本明細書の一部を構成するものとする。

20 本発明は、3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸及びこれに化学構造上極めて
類似の化合物群である β -ヒドロキシカルボン酸化合物のなかから一種又は二種
以上の成分を選ぶか、又は、3-メルカプト-3-メチルヘキサノール及びこれに
化学構造上極めて類似の化合物群である3-メルカプトアルコール化合物のなか
から一種又は二種以上の成分を選ぶか、さらに好ましくは、上記 β -ヒドロキシカ
25 ルボン酸化合物と上記3-メルカプトアルコール化合物とを組み合わせること
によって、実際のアポクリン臭に極めて近い匂いを持つ体臭判定用指標物質を調製し

、人が実際に感じる体臭の程度（強さと 質）や、体臭に対するデオドラント剤の有効性に関して、正確な評価結果を得ることを特徴とする。

本発明者らによってヒトの腋窩部の汗中から発見された前記 3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸及び 3-メルカプトアルコール化合物類は以下のような特徴があることから、腋窩部における 3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸及び／又は 3-メルカプトアルコール化合物類の存在量と存在状態が、腋窩部のアポクリン臭の程度及び個体差を形成するものとなっていると考えられる。

（3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸及び 3-メルカプトアルコール化合物の特徴）

10 (1) 腋窩部の汗から 3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸及び／又は 3-メルカプトアルコール化合物が検出されない人はアポクリン臭を持っておらず、腋窩部の汗から 3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸及び／又は 3-メルカプトアルコール化合物が検出される人はアポクリン臭を持っている。すなわち、3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸及び 3-メルカプトアルコール化合物は、アポクリン臭のある人に特異的に存在するものである（図 1, 2, 4, 5）。

15 (2) 腋窩部の汗に含まれる 3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸（図 3）及び／又は 3-メルカプトアルコール化合物の量が多い人ほど、アポクリン臭が強い。

20 (3) 腋窩部の汗をインキュベーションしても 3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸及び／又は 3-メルカプトアルコール化合物が検出されない人はアポクリン臭を持っていない。一方、アポクリン臭を持っている人は、インキュベーションによって腋窩部の汗に含まれる 3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸及び／又は 3-メルカプトアルコール化合物の量が増加する。すなわち、3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸及び 3-メルカプトアルコール化合物は、アポクリン臭のある人の汗をインキュベーションすることで特異的に増加するものである（図 6, 7）。

(4) β -ヒドロキシカルボン酸化合物は、カルボキシル基だけでなく更に β 位にヒドロキシル基を有しているので、ガスクロマトグラフィーや液体クロマトグラフィー等の機器分析において感度良く検出するため、あるいは、呈色反応を利用して、分光光度計や肉眼による判定を行うために、化学的修飾を行うことができる。

5 (5) また β -ヒドロキシカルボン酸及び／又はその誘導体は、極性や溶解度の差等を利用してアポクリン臭への寄与度が低い他の成分と分離することができる。

(5) 3-メルカプトアルコール化合物は、ヒドロキシル基だけでなく更に3位にメルカプト基を有しているので、機器分析において感度良く検出するため、あるいは、呈色反応を利用して、分光光度計や肉眼による判定を行うために、化学的修飾を行うことができる。

10 (6) また3-メルカプトアルコール化合物及び／又はその誘導体は、極性や溶解度の差等を利用してアポクリン臭への寄与度が低い他の成分と分離することができる。

(6) β -ヒドロキシカルボン酸化合物および3-メルカプトアルコール化合物は、吸着カラムクロマトグラフィーなどの方法により単離できるため、確

15 実で迅速かつ簡単な呈色反応を利用して定量評価することができる。

(7) また、アポクリン臭を構成する主要な臭気として、クミン油様のスパイシーな匂いと、硫黄様の生臭い匂いが存在し、クミン油様のスパイシーな匂いが強い人からは3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸が比較的多量に検出され、硫黄様の生臭い匂いが強い人からは3-メルカプトアルコール化合物が

20 比較的多量に検出される。

更に、3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸に化学構造が類似する化合物群である β -ヒドロキシカルボン酸化合物は、3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸と化学的性質や官能的性質（特に、匂い）等の諸性質が類似していることから、3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸と同様に、アポクリン臭を

25 判定するための客観的な指標として利用することができる。

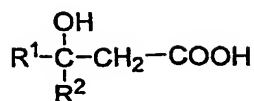
従って、腋窩部における β -ヒドロキシカルボン酸化合物及び／又はその誘

導体（例えば、3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸塩やエステル）の存在量とその存在状態を化学的又は物理的等の適切な方法で測定することにより、腋窩部のアポクリン臭を、 β -ヒドロキシカルボン酸化合物及び／又はその誘導体を指標として客観的且つ定量的に測定することが可能である。

- 5 また、腋窩部における3-メルカプトアルコール化合物及び／又はそれらの誘導体（例えば、3-メルカプト-3-メチルヘキサノール塩やエーテル）の存在量とその存在状態を化学的又は物理的等の適切な方法で測定することにより、腋窩部のアポクリン臭を、3-メルカプトアルコール化合物及び／又はそれらの誘導体を指標として客観的且つ定量的に測定することが可能である。
- 10 特に本発明においては、 β -ヒドロキシカルボン酸化合物及び／又はその誘導体と、3-メルカプトアルコール化合物及び／又はそれらの誘導体を組み合わせて用いることにより、クミン油様のアポクリン臭と硫黄様のアポクリン臭のいずれも評価可能で、より実際のアポクリン臭に近い評価が可能である。また、そのような組み合わせにより体臭判定及びデオドラント剤の有効性判定に用いる場合には、人の
- 15 体臭又は体臭の一部である腋臭の程度を、腋窩部のアポクリン臭の有無、及び強弱だけでなく、質的な相違の点から客観的且つ定量的に判定することができ、判定結果の正確性を高めることができる。

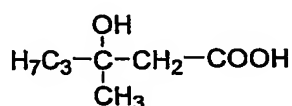
- 本発明に係る、成分（A）における β -ヒドロキシカルボン酸化合物は、アポクリン臭に極めて良く似た匂いを持つ3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸及び
- 20 これに化学構造上極めて類似の化合物群であり、下記式（1）で表される。なお、3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸は下記式（3）で表される。

式(1)



(式中、R¹は炭素数1乃至4のアルキルであり、R²は水素原子又は炭素数1乃至4のアルキルであり、式(1)の総炭素数が10以下である。)

式(3)



5

上記式(1)において、R¹は炭素数1乃至4のアルキルであり、炭素数1乃至4のアルキルは直鎖又は分岐アルキルのいずれであっても良く、例えば、メチル、エチル、n-プロピル、i-プロピル、n-ブチル、i-ブチル、t-ブチルを挙げることができる。β-ヒドロキシカルボン酸化合物は、3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸の性質に近いほど指標物質として使い易いと考えられることから、その化学構造を3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸に近づけるために、R¹の炭素数は3又は4、特に3であることが好ましく、また、直鎖アルキルであることが好ましい。

上記化学式(1)において、R²は水素原子又は炭素数1乃至4のアルキルであり、アルキルは直鎖又は分岐アルキルのいずれであってもよい。R²としては、例えば、メチル、エチル、n-プロピル、i-プロピル、n-ブチル、i-ブチル、t-ブチルを挙げることができる。β-ヒドロキシカルボン酸化合物の化学構造を3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸に近づけるために、R²の炭素数は1又は2、特に1であることが好ましい。

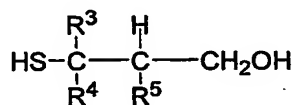
β-ヒドロキシカルボン酸化合物の中でも、3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサ

ン酸、3-ヒドロキシ-3-メチルペンタン酸、3-ヒドロキシ-3-メチルブタン酸、3-ヒドロキシヘキサン酸、3-ヒドロキシペンタン酸が好ましく、中でも、3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸は、前述のように腋窩部の汗に存在するアポクリン臭の主要な原因成分そのものなので、指標物質として特に適している

5。

本発明に係る、成分(C)における、3-メルカプトアルコール化合物は、アポクリン臭のある人の汗に比較的多く含まれており、アポクリン臭に極めて良く似た匂いを持つ、3-メルカプト-3-メチルヘキサノール、3-メルカプトヘキサノール、3-メルカプトペンタノール、3-メルカプト-2-メチルペンタノール、3-メルカプト-2-メチルブタノール及びこれらに化学構造上極めて類似の化合物群であり、下記式(2)で表される。3-メルカプト-3-メチルヘキサノール、3-メルカプトヘキサノール、3-メルカプトペンタノール、3-メルカプト-2-メチルブタノール、3-メルカプト-2-

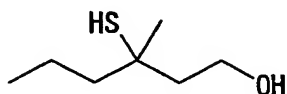
式(2)



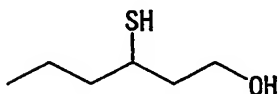
メチルペンタノール、は下記式(4a)～(4e)で表される。

15 (式中、R³は水素原子またはメチル基、R⁴は炭素数1乃至3のアルキル基、R⁵は水素原子またはメチル基であり、式(2)の総炭素数が8以下である。)

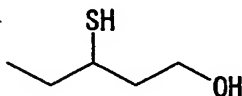
式 (4 a) : 3-メルカプト-3-メチルヘキサノール



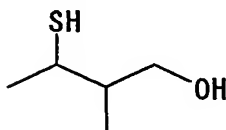
式 (4 b) : 3-メルカプトヘキサノール



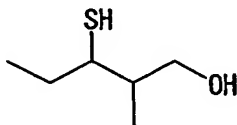
式 (4 c) : 3-メルカプトペンタノール



式 (4 d) : 3-メルカプト-2-メチルブタノール



式 (4 e) : 3-メルカプト-2-メチルペンタノール



3-メルカプトアルコール化合物は、該化合物群の中で汗に比較的多く含まれる3-メルカプト-3-メチルヘキサノールの性質に近いほど指標物質として使い易いと考えられることから、その化学構造を3-メルカプト-3-メチルヘキサノールに近づけることが好ましい。

- 5 かかる観点から、上記式 (2) において、 R^3 は水素原子又はメチル基の中でも、メチル基であることが好ましい。また、 R^4 は炭素数1乃至3のアルキル基であり、炭素数1乃至3のアルキルは直鎖又は分岐アルキルのいずれであっても良く、

例えば、メチル、エチル、*n*-プロピル、*i*-プロピルを挙げることができるが、中でもR⁴の炭素数は2又は3、特に3であることが好ましい。また、R⁵は水素原子又はメチル基であるが、中でも水素原子であることが好ましい。

3-メルカプトアルコール化合物の中でも、3-メルカプト-3-メチルヘキサノール、3-メルカプトヘキサノール、3-メルカプトペンタノール、3-メルカプト-2-メチルペンタノール、3-メルカプト-2-メチルブタノールが好ましく、中でも、3-メルカプト-3-メチルヘキサノールは、腋窩部の汗に比較的多く含まれているので、指標物質として特に適している。

本発明に係る前記成分(A)は、指標物質としての検出機能を失わない限り、ガスクロマトグラフィーや液体クロマトグラフィーにおいて感度良く検出するため、あるいは、呈色反応を利用して分光光度計や肉眼による判定を行うために、化学的修飾を施して成分(B)として用いても良く、例えば、 β -ヒドロキシカルボン酸化合物のカルボキシル基又は β 位ヒドロキシ基の一方又は両方に原子又は原子団を導入して塩、エステル、アミド、エーテル等にした誘導体等を用いることができる。

液体クロマトグラフィー分析、分光光度計分析、比色判定を行う際に利用でき、 β -ヒドロキシカルボン酸化合物のカルボキシル基と反応する試薬としては、2-ニトロフェニルヒドラジン、6,7-ジメトキシ-1-メチル-2-(1H)-キノキサリノン-3-プロピオニルカルボン酸ヒドラジド(DMEQ-H)、*p*-(4,5-ジフェニル-1H-イミダゾール-2-イル)-ベンゾヒドラジド、*p*-(1-メチル-1H-フェナントロ-[9,10-d]イミダゾール-2-イル)-ベンゾヒドラジド、*p*-(5,6-ジメトキシ-2-ベンゾチアゾイル)-ベンゾヒドラジド等の酸ヒドラジドに誘導できる試薬、9-アンスリルジアゾメタン、1-ナフチルジアゾメタン、1-(2-ナフチル)ジアゾエタン、1-ピレニルジアゾメタン、4-ジアゾメチル-7-メトキシクマリン、4-ブロモメチル-7-メトキシクマリン(Br-MmC)、3-ブロモメチル-6,7-ジメトキシ-1-メ

チルー 2 (1 H) -キノキサリノン、9 -ブロモメチルアクリジン、4 -ブロモ
メチルー 6, 7 -メチレンジオキシクマリン、N - (9 -アクリジニル) -ブロモ
アセトアミド、2 - (2, 3 -ナフチルイミノ) エチルトリフルオロメタンスルホ
ネート、2 - (フタルイミノ) エチルトリフルオロメタンスルホネート、N -クロ
5 ロメチルフタルイミド、N -クロロメチルー 4 -ニトロフタルイミド、N -クロロ
メチルイサチン、o - (p -ニトロベンジル) -N, N' -ジイソプロピルイソウ
レア (PNBD I) 等のエステルに誘導できる試薬、モノダンシルカダベリン、2
- (p -アミノメチルフェニル) -N, N -ジメチルー 2 H -ベンゾトリアゾール
- 5 -アミン等のアミドに誘導できる試薬等が挙げられる。

10 液体クロマトグラフィー分析、分光光度計分析、比色判定を行う際に利用でき、
 β -ヒドロキシカルボン酸化合物のヒドロキシル基と反応する試薬としては、配位
化合物に導くための、硝酸セリウムアンモニウム、エステルに導くための、4 - (
2 -フタルイミジル) ベンゾイルクロライド及びその誘導体、エーテルに導くため
の、4 -ジアゾメチルー 7 -メトキシクマリン等の試薬が挙げられる。

15 また、 β -ヒドロキシカルボン酸化合物は、無機塩、ヒドロキサム酸、酸クロラ
イド、銅錯体やコバルト錯体等に誘導した後、発色性の化合物に導いても良く、 β
-ヒドロキシカルボン酸の無機塩は発色性のエステルに、ヒドロキサム酸は発色性
の金属塩に、酸クロライドは発色性のアミドに、ヒドロキシカルボン酸の銅錯体や
コバルト錯体は、発色性のキレート化合物に、それぞれ誘導することができる。

20 β -ヒドロキシカルボン酸化合物の無機塩を発色性のエステルに誘導する試
薬としては、p -ニトロベンジルブロミド、フェナシルブロミド、p -クロロ
フェナシルブロミド、p -ブロモフェナシルブロミド (PBPB)、p -ヨー
ドフェナシルブロミド、p -ニトロフェナシルブロミド、p -フェニルフェナ
シルブロミド、p -フェニルアゾフェナシルブロミド、N, N -ジメチルー p
25 -アミノベンゼンアゾフェナシルクロライド等があり、ヒドロキサム酸を発色
性の錯塩に誘導する試薬としては、塩化第二鉄、バナジウム等があり、酸クロ

ライドを発色性のアミドに誘導する試薬としては、9-アミノフェナントレン等があり、ヒドロキシカルボン酸化合物の銅またはコバルト錯体を発色性のキレート化合物に誘導する試薬としては、ジエチルジチオカルバミン酸、ビスクロヘキサノンオキサリルジヒドラゾン、パソクプロイン等があり、適宜用いることができる。

ガスクロマトグラフィー分析を行う際に利用でき、 β -ヒドロキシカルボン酸化合物のカルボキシル基及び／又はヒドロキシル基と反応する試薬としては、N-トリメチルシリルイミダゾール (TMS I) やN,O-ビス (トリメチルシリル) アセトアミド (BSA) などのシリル化剤、無水トリフルオロ酢酸やトリフルオロアセチルイミダゾールなどのアシル化剤等が挙げられる。

本発明に係る前記成分 (C) は、指標物質としての検出機能を失わない限り、ガスクロマトグラフィーや液体クロマトグラフィーにおいて感度良く検出するため、あるいは、呈色反応を利用して、分光光度計や肉眼による判定を行うために、化学的修飾を施して成分 (D) として用いても良い。例えば、3-メルカプトアルコール化合物の3位のメルカプト基又はヒドロキシル基の一方又は両方に原子又は原子団を導入して塩、エーテル、エステル等にした誘導体を用いることができる。

液体クロマトグラフィー分析、分光光度計分析、比色判定を行う際に利用でき、3-メルカプトアルコール化合物のメルカプト基に反応する試薬、方法としては、N-(9-アクリディニル) マレイミド (NAM)、4-クロロ-7-スルフォベンゾフラザン アンモニウム塩 (SBDC 1)、4-フロロ-7-スルフォベンゾフラザン アンモニウム塩 (SBD-F)、4-フロロ-7-スルファモイルベンゾフラザン (ABD-F)、N-[4-(5,6-メチレンジオキシー-2-ベンゾフラニル) フェニル]マレイミド (MBPM)、N-[4-(6-ジメチルアミノ-2-ベンゾフラニル) フェニル]マレイミド (DBPM)、N-[p-(2-ベンズイミダゾリル) フェニル]マレイミド、モノプロモビマン、5,5-ジチオビス (2-ニトロ安息香酸)、フェナンジンメト

サルフェート、*o*-フタルアルデヒド と 2-アミノエタノールを用いる蛍光法があり、適宜用いることができる。

液体クロマトグラフィー分析、分光光度計分析、比色判定を行う際に利用でき、3-メルカプトアルコール化合物のヒドロキシル基に反応する試薬としては、3-クロロカルボニル-6、7-ジメトキシ-1-メチル-2 (1H)-キノキサリノン (DMEQ-COC1)、2-(5-クロロカルボニル-2-オキサゾイル)-5、6-メチレンジオキシベンゾフラン、3、4-ジヒドロ-6、7-ジメトキシ-4-メチル-3-オキソキノザリン-2-カルボニルクロライド、フタルイミジルベンゾイルクロライド、1-アンスロイルニトリル、9-アンスロイルニトリル、7-メトキシクマリン-3-カルボニルアチド、*p*-フェニルアゾベンゾイルクロライド、4-ジアルキルアミノ-3、5-ジニトロベンゾイルクロライド、*p*-ニトロベンゾイルクロライド、3、5-ジニトロベンゾイルクロライド等が挙げられる。

ガスクロマトグラフィー分析を行う際に利用でき、3-メルカプトアルコール化合物のメルカプト基及び／又はヒドロキシル基と反応する試薬としては、ヘキサメチルジシラザン (HMDS)、*N*-トリメチルシリルイミダゾール等のシリル化試薬、あるいは無水トリフロロ酢酸、トリフロロ酢酸イミダゾール等のアシル化試薬等が挙げられる。

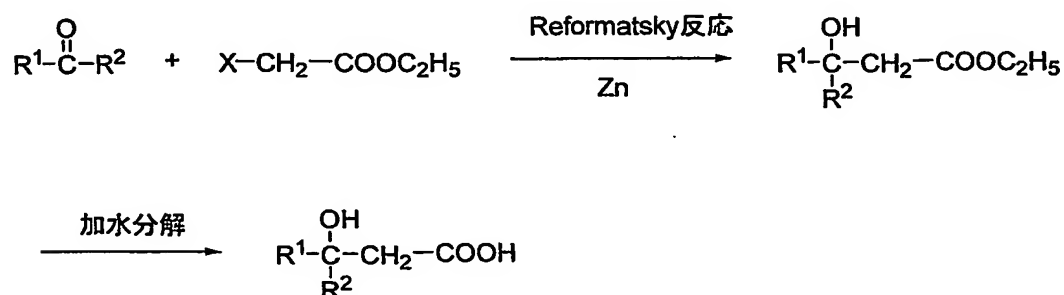
β -ヒドロキシカルボン酸化合物及び／又は3-メルカプトアルコール化合物の標識化合物として可視領域の発色団を導入したものを用いる場合には、標識化合物の濃度-発色標準サンプルを調製し、人から採取した汗を同じ試薬で発色させたものと比較して、目視でアポクリン臭の程度を判断することも可能である。

β -ヒドロキシカルボン酸化合物及びその誘導体は合成可能であり、一定品質の合成物を安定供給することで時と場所を選ばずにアポクリン臭を客観的に評価、判定できる点でも、指標物質として適している。 β -ヒドロキシカルボン酸化合物は

、例えば下記反応式（５）に従って、レ フォルマツキー反応〔Reformatsky Reaction; Ber. 20, 1210(1887), J. Russ. Phys. Chem. Soc., 22, 44(1890)〕により β 位にヒドロキシル基を持つエステルを合成し、そのエステルを加水分解することにより合成することができる。

5

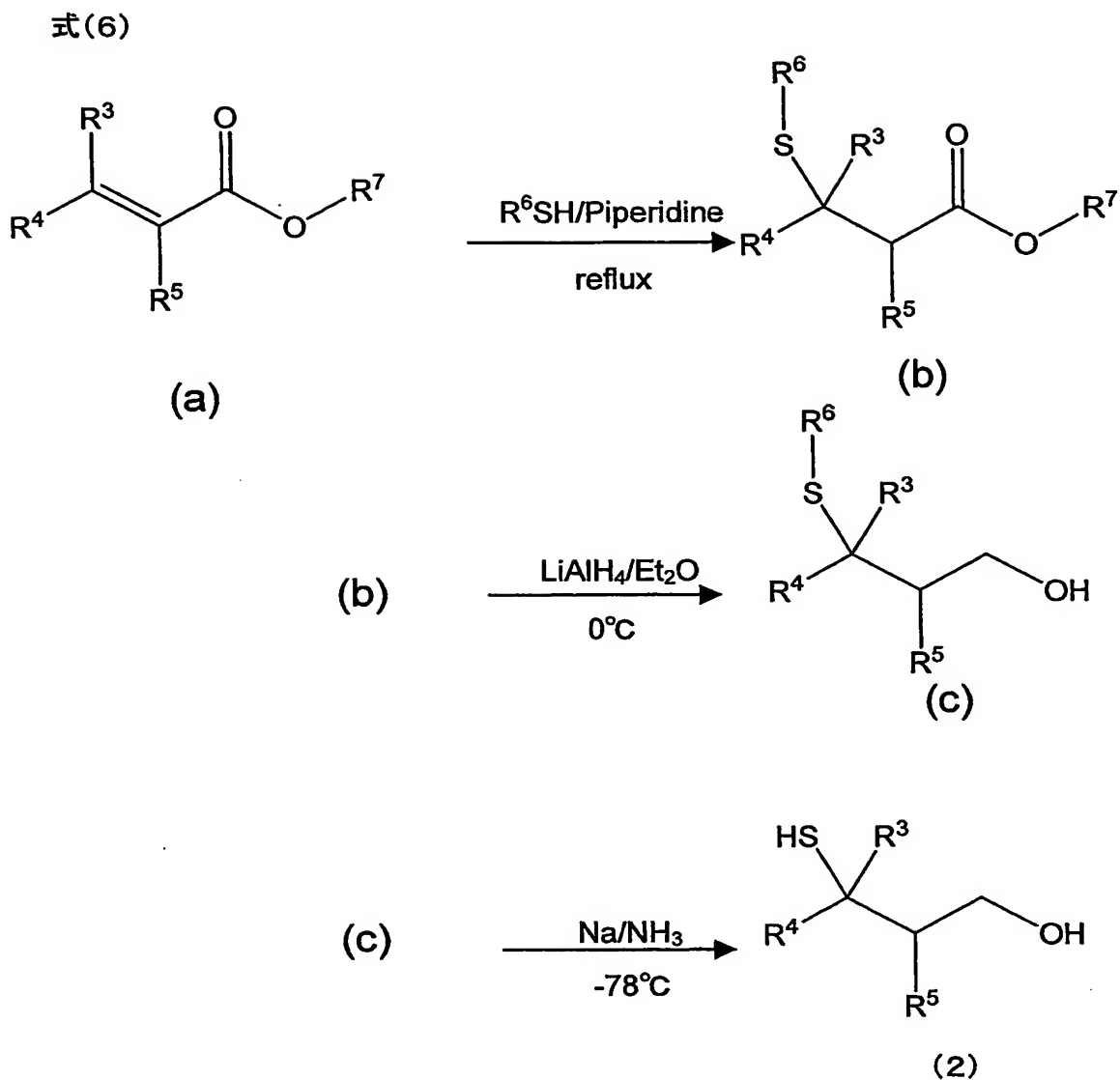
式(5)



（式中、 R^1 及び R^2 は前記と同じであり、 X はハロゲン原子である。）

また、３－メルカプトアルコール化合物及びその誘導体も合成可能であり、一定
 10 品質の合成品を安定供給することで時と場所を選ばずにアポクリン臭を客観的に
 評価、判定できる点でも、指標物質として適している。

３－メルカプトアルコール化合物は、例えば下記反応式（６）に従って合成可能
 である。すなわち、 β 位に不飽和構造を有する脂肪酸エステル誘導体（ a ）を準備
 し、誘導体（ a ）のカルボニル炭素より３位にチオエーテル基としてベンジルメル
 15 カプタン等を付加導入して誘導体（ b ）とし、その誘導体（ b ）を水素化リチウム
 アルミニウム等の還元剤を用いて還元、エステル基をアルコール基に変換して誘導
 体（ c ）とする。引き続いて、バーチ還元によりチオエーテル基をメルカプト基に
 誘導することにより３－メルカプトアルコール化合物を合成することができる。



(式中、 R^3 、 R^4 及び R^5 は、上記式(2)と同じであり、 R^6 はベンジル基、及び R^7 はアルキル基である。)

合成された β -ヒドロキシカルボン酸化合物及び3-メルカプトアルコール化合物は、公知の方法により適宜、塩、エステル或いはその他の誘導体に変換すること

不斉炭素原子を有するβ-ヒドロキシカルボン酸化合物及び3-メルカプトアルコール化合物は、ラセミ混合物として合成しても良いし、不斉合成により両鏡像異性体を作り分けることもできる。また、ラセミ混合物を光学分割した後、使用することもできる。

- 5 本発明に係る体臭判定用指標物質は、成分(A)及び/又は成分(C)そのものを指標成分として用いることは勿論のこと、成分(B)及び/又は成分(D)のように前記指標成分を誘導体化したものをを用いることもできる。また、誘導体化しないものと誘導体化したものを組み合わせて用いてもよく、例えば成分(A)と成分(D)、成分(C)と成分(B)、成分(A)と成分(C)と成分(D)の組み合わせを指標物質として用いても良い。また、各成分(A)乃至(D)の各グループから夫々、1種又は2種以上組み合わせて用いることができる。更に、本発明に係る体臭判定用指標物質は、酢酸、酪酸、イソ吉草酸、3-メチルー2-ヘキセン酸、4-エチルヘプタン酸、7-オクテン酸、1-オクテン-3-オン、シス-1, 5-オクタジエン-3-オン、3 α -アンドロステノール、3 α -アンドロステノンのような公知のアポクリン臭や酸臭等の体臭原因物質のなかから一種又は二種以上を選び、更に加えることもできる。
- 10
- 15

- 本発明に係る体臭判定用指標物質は、必要に応じて成分(A)と成分(C)の質量比を変えることによって、クミン様と硫黄様の間で質感の異なるアポクリン臭の様々な匂いに対応する指標物質を調製することができる。特に、実際の腋窩部の汗の存在比に近づける点から、前記成分(C)：成分(A)は、1：10～1：1000(質量比)であることが好ましく、更に1：10：～1：500、特に1：50～1：200であることが好ましい。
- 20

本発明においては、上記本発明に係る指標物質を用い、体臭を判定することができる。

- 25 すなわち、人の体臭又は体臭の一部である腋臭の程度を、腋窩部のアポクリン臭の有無及び強弱の点から客観的且つ定量的に判定するために、合成された

β -ヒドロキシカルボン酸化合物及び／又はその誘導体を用いて、該腋窩部の汗に含まれる β -ヒドロキシカルボン酸化合物及び／又はその誘導体を定量し、その含有量を観察することができる。また、合成された3-メルカプトアルコール化合物及び／又はその誘導体を用いて、該腋窩部の汗に含まれる3-メルカプトアルコール化合物及び／又はその誘導体を定量し、その含有量を観察することができる。さらに、合成された β -ヒドロキシカルボン酸化合物及び／又はその誘導体と、合成された3-メルカプトアルコール化合物及び／又はその誘導体を用いて、該腋窩部の汗に含まれる β -ヒドロキシカルボン酸化合物及び／又はその誘導体と、3-メルカプトアルコール化合物及び／又はその誘導体を定量し、その含有量を観察することができる。

選ばれた各指標物質は、判定手順の過程において、夫々単独で個別に指標物質として用いても良いし、混合して複数成分を含む指標物質として用いても良い。

また本発明においては、 β -ヒドロキシカルボン酸化合物及びその誘導体の一種又は二種以上、及び／又は、3-メルカプトアルコール化合物及びその誘導体の一種又は二種以上を指標として、体臭を判定することができる。すなわち、本発明において「指標として用いる」とは、汗に含まれる成分(A)(B)(C)及び／又は(D)を測定し、評価することを意味する。典型的には合成等により予め調製した指標物質を用いる場合が該当するが、指標物質を用いない方法であっても良い。例えば、汗に含まれる成分(A)(B)(C)及び／又は(D)を所定の方法で測定し、予め入手してある検量線等の標準データに基づいて体臭の程度又はデオドラント剤の有効性を評価する方法であっても良い。

本発明に係る、 β -ヒドロキシカルボン酸化合物及び／又は3-メルカプトアルコール化合物、あるいはそれらの誘導体の存在量とその存在状態を測定するために、人由来の汗を採取する方法としては、高温環境下に入室し温熱発汗

した腋窩部汗を試験管等を集める方法 や腋窩部に一定時間綿製のパッドを装着する方法、腋窩部の汗を脱脂綿等で拭き取る方法等が挙げられる。

5 なお、３－メルカプトアルコール化合物は、アポクリン臭を有する人由来の汗を嫌気性環境下にてインキュベーションすることで１０～１００倍或いはそれ以上に生産される。一方、アポクリン臭の無い人由来の汗をインキュベーションしても生産されない。

10 この性質を活用し、採取した汗をインキュベートしてから分析することにより、３－メルカプトアルコール化合物の検出が容易となり、当該成分（Ｃ）の判定物質としての有用性が高まる、と同時に判定結果の正確性をも高めることができる。さらに、この性質を活用し、指標物質としての３－メルカプトアルコール化合物を工業生産してもよい。

15 また、腋窩部においてアポクリン汗が分泌されているにもかかわらず、微生物によって分解されず匂いが発生していない場合にはアポクリン臭の潜在状態が存在していることになる。このような状態は官能評価や腋臭との相関性がある事実の調査を行っても正確に評価できない場合もある。

これに対して、人由来の汗を嫌気性環境下にてインキュベーションした後で、本発明の指標物質を用い体臭を判定することで、被験者がアポクリン臭を発生させる可能性のある体質か否か、すなわち、ポテンシャル評価を行うこともできる。

20 採取した汗から３－メルカプトアルコール化合物を大量に生産するための、嫌気性又は微好気性の環境を作る方法としては、インキュベーション雰囲気内の酸素を除去して炭酸ガスに置換できる方法であれば特に限定されず、人工的に調製した混合ガス（窒素、炭酸ガス）で満たす方法や酸素ガスを吸引し炭酸ガスを発生させる剤を用いる方法等が挙げられる。また、２種類（窒素、炭酸ガス）混合ガスのかわりに３種類（窒素、炭酸ガス、水素）の混合ガスを利用
25 してもよい。残存酸素濃度を低減するための方法としては、残存酸素を還元ス

チールウールに吸収させる方法や触媒により酸素を水に変換する方法が挙げられる。

嫌気性又は微好気性環境における酸素ガス濃度は、0～10 v/v%（体積百分率、以下単に%）の範囲であれば良く、好ましくは0～5%の範囲であり、特に0～1%の範囲であることが好ましい。また、炭酸ガス濃度は5.0～22.0%の範囲であれば良く、好ましくは10.0～22.0%の範囲であり、特に20.0～22.0%の範囲であることが好ましい。

3-メルカプトアルコール化合物を大量に生産するための、人由来の汗のインキュベーション温度としては、15～45℃の範囲であれば良く、好ましくは20～40℃の範囲であり、特に25～38℃の範囲であることが好ましい。また、汗のインキュベーション時間としては、6～336時間の範囲であれば良く、好ましくは12～240時間の範囲であり、特に24～168時間の範囲であることが好ましい。

本発明に係る体臭判定用指標物質を用いて、又は、成分（A）（B）（C）及び（D）の一種又は二種以上を指標として、本発明の体臭判定を行う方法としては、人間の嗅覚による直接的な官能評価のほか、化学分析に基づく定量的評価を行うことができ、公知の様々な評価方式に適合させて用いればよい。

嗅覚により官能評価を行う場合には、本発明の指標物質、好ましくは指標成分として3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸又はその誘導体、及び／又は、3-メルカプトアルコール化合物又はその誘導体を用い、数段階に希釈し、各濃度の匂い標準サンプルを調製する。そして、腋窩部から採取した汗から調製した被験サンプルの匂いを標準サンプルと照合し、汗に含まれる3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸及び／又は3-メルカプトアルコール化合物の量を官能評価により判定すればよい。

腋窩部の汗に含まれる成分（A）及び成分（C）の含有量をGC-MSで測定する場合には、好ましくは3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸又はその誘導体と

、3-メルカプトアルコール化合物又はその誘導体とを標準物質（スタンダード）として用い、検量線を夫々作製する。この検量線を使用して、採取した汗に含まれる3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸と3-メルカプトアルコール化合物のピークを同定し、その量を測定すればよい。

- 5 このような機器分析を行う場合には、成分（A）と成分（C）とを、それぞれ検出容易な標識物質や蛍光試薬等と反応させた誘導体である成分（B）と成分（D）とを含有する指標物質を用いてもよい。また、成分（C）及び／又はその誘導体である成分（D）を検出する方法としては、検体として人の汗を採取し有機溶剤等を用いて抽出したものを直接、高感度硫黄検出器を備えたガスクロマトグラフィーに
- 10 導入して検出する方法もある。

また、体臭を判定する測定方法としては、汗から分離した成分（A）及び／又は成分（C）に対して、呈色試薬を加えて、発現された色を分光光度計で測定したり、肉眼で比色判定しても良い。

- 呈色反応を利用する場合には、呈色試薬等と反応させた成分（A）及び／又は成分（C）とを含有する指標物質を用いて、水溶液を充填した比色管や或いは標識化合物を含浸させた試験紙の形で様々な濃度の呈色標準サンプルを作成しておき、採取した汗を呈色試薬と反応させて得られる色の変化を呈色標準サンプルと比較することによって、視覚により官能評価を行うことができる。
- 15

- このようにして腋窩部のアポクリン臭に含まれる、成分（A）に起因する匂いの強さと成分（C）に起因する匂いの強さを、匂い又は匂い以外のパラメータを利用して定量的に評価し、総合判定することで、体臭又は体臭の一部である腋臭の程度を判定することができる。
- 20

- また、腋窩部において3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸及び／又は3-メルカプトアルコール化合物の生成量が多いにもかかわらず、それが塩等の匂いが無い又は弱い誘導体に変化している場合にはアポクリン臭の潜在状態が存在していることになるが、このような状態は官能評価やアポクリン臭との相関性がある事実
- 25

の調査を行っても正確に評価できない 場合もある。これに対して、本発明では、 β -ヒドロキシ- γ -メチルヘキサノ酸及び／又は γ -メルカプトアルコール化合物それぞれの匂いが潜在化している誘導体を分析して、その当該存在量を成分(A)及び成分(C)に換算することができるので、被験者が腋臭を発生させる可能性のある体質か否か、すなわち、ポテンシャル評価を行うことができる。

本発明の指標物質は、上記したように化学分析、機器分析又は官能評価等のいずれにも利用され客観性の高い定量的判定が可能となるが、特に、化学分析や機器分析等により、測定値を β -ヒドロキシカルボン酸化合物及び／又はその誘導体と、 γ -メルカプトアルコール化合物及び／又はそれらの誘導体との存在量として表現することで、判定結果から主観性を排除し、客観的且つ定量的に体臭を判定することが可能である。

更に本発明においては、アポクリン臭をターゲットとするデオドラント剤の有効性を、本発明に係る指標物質を用い、又は、この指標物質の構成成分を指標として用い、客観的且つ定量的に判定することができる。

デオドラント剤の有効性を判定する方法としては、前記指標物質を単体として使用してもよく、他の成分、例えば溶解又は希釈のための溶剤や、安定剤、制汗剤、殺菌剤、抗菌剤、界面活性剤、酸化防止剤、香料、植物抽出物等の添加剤が配合されて保存や判定試験での使用等の実用に即した組成物に調製されて用いても良い。

アポクリン臭をターゲットとするデオドラント剤は、皮膚上の細菌を殺菌して、汗の分解を予防するタイプ、匂い成分を匂わない誘導体に分解又は変化させるタイプ、或いは、匂いをマスキングするタイプ等の如何なるタイプの作用機序であっても良い。 β -ヒドロキシカルボン酸化合物及び／又はその誘導体、又は、 γ -メルカプトアルコール化合物及び／又はそれらの誘導体、又は、両者を組み合わせて、デオドラント剤の有効性判定用指標物質として使用する方法は特に制限されず、デオドラント剤の作用機序及び評価方式に適合させて用

いればよい。

例えば、指標成分として β -ヒドロキシカルボン酸化合物及び／又はその誘導体、好ましくは3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサノ酸又はその誘導体と、3-メルカプトアルコール化合物又はその誘導体、好ましくは3-メルカプト-3-メチルヘキサノール、3-メルカプトヘキサノール、3-メルカプトペンタノール、3-メルカプト-2-メチルペンタノール、3-メルカプト-2-メチルブタノール又はそれらの誘導体とを所定濃度で含有する指標物質に、所定量のデオドラント剤サンプルを添加し、指標物質の変化状態を適切な方法で定量することで、デオドラント剤サンプルの有効性を客観的且つ定量的に判定できる。

指標物質の変化状態を定量する方法としては、デオドラント剤サンプルが β -ヒドロキシカルボン酸化合物及び／又は3-メルカプトアルコール化合物を分解又は別の化合物に誘導して、匂いを減じるタイプである場合には、指標物質の検量線を予め作製しておき、この検量線を用いて機器分析を行っても良いし、指標物質の変化体又は未変化体を滴定又は抽出等の化学分析により定量してもよい。デオドラント剤サンプルがアポクリン臭をマスキングするタイプである場合には、指標物質を数段階に希釈して各濃度の匂い標準サンプルを調製し、デオドラント剤サンプルを添加した指標物質の匂いを標準サンプルと照合し、マスキング効果を官能評価により判定すればよい。

また、 β -ヒドロキシカルボン酸化合物及び／又は3-メルカプトアルコール化合物の標識化合物として、例えば蛍光標識化合物を用い、かかる標識化合物を所定濃度で含有する指標物質に所定量のデオドラント剤サンプルを添加し、指標物質の変化状態を同じ指標物質の検量線を用いて機器分析を行うことで定量してもよい。また、標識化合物を所定濃度で含有する指標物質に所定量のデオドラント剤サンプルを添加した後、指標物質の変化体又は未変化体を滴定又は抽出等の化学分析により定量する場合に、標識部分を利用して検出してもよ

い。

更に、デオドラント剤サンプルを人の腋窩部に実際に適用し、適用の前後に各々採取した腋窩部の汗を本発明に係る指標物質を用いて評価し、比較することも可能である。

- 5 このようにして、デオドラント剤を作用させた本発明の指標物質のアポクリン臭に含まれる、成分（A）に起因する匂いの強さと成分（C）に起因する匂いの強さを、匂い又は匂い以外のパラメータを利用して定量的に評価し、総合判定することで、デオドラント剤の有効性を客観的且つ定量的に評価することができる。
- 10 以上に述べたように、本発明に係る、式（1）で表される β -ヒドロキシカルボン酸化合物（成分（A））、前記成分（A）の誘導体（成分（B））、式（2）で表される3位にメルカプト基を有するアルコール化合物（成分（C））、及び、前記成分（C）の誘導体（成分（D））よりなる群から選ばれる少なくとも一つとを含有する体臭判定用指標物質を用いることにより、又は、前記成分（A）、（B）（C）及び（D）よりなる群から選ばれる少なくとも一つを
- 15 指標として用いることにより、人の体臭又は体臭の一部である腋臭の程度を、腋窩部のアポクリン臭の有無、強弱及び、質的な相違の点から客観的且つ定量的に判定することができる。

- 特に、成分（A）及び／又は（B）よりなる群から選ばれる少なくとも一つ
- 20 と、成分（C）及び／又は（D）よりなる群から選ばれる少なくとも一つとを含有する体臭判定用指標物質を用いることにより、又は、成分（A）及び／又は（B）と成分（C）及び／又は（D）とを組み合わせる指標として用いることにより、成分（A）に起因する匂いと、成分（C）に起因する匂いを総合評価することができる。そのため、人が実際に感じる汗のアポクリン臭を、さら
- 25 に正確に判定できる。

本発明の体臭判定用指標物質は、特に、化学分析や機器分析等により、測定

値を成分（Ａ）及び／又は（Ｂ）や、成分（Ｃ）及び／又は（Ｄ）の含有量で表現することで、客観的且つ定量的に体臭を判定することが可能である。

腋窩部においてβ-ヒドロキシカルボン酸化合物塩又はエステル等及び／又は3-メルカプトアルコール化合物塩又はエステル等のように匂いが無い又は弱い誘導体に変化している場合でも、本発明に係る指標物質によって、試料中のβ-ヒドロキシカルボン酸化合物及び／又は3-メルカプトアルコール化合物を検出又は定量することができるため、腋臭の潜在状態、すなわち、前記の匂いのない又は弱い状態についても、客観的且つ正確に評価することができる。

また、腋窩部においてアポクリン汗が分泌されているにもかかわらず、微生物によって分解されず匂いが発生していない場合にはアポクリン臭の潜在状態が存在していることになるが、本発明では、人由来の汗をインキュベーションすることで、被験者がアポクリン臭を発生させる可能性のある体質か否か、すなわち、ポテンシャル評価を行うこともできる。

更に本発明においては、成分（Ａ）及び（Ｂ）から選ばれる成分、及び／又は成分（Ｃ）及び（Ｄ）から選ばれる成分を含有する指標物質を用い、又は、成分（Ａ）及び（Ｂ）から選ばれる成分、及び／又は、成分（Ｃ）及び（Ｄ）から選ばれる成分を指標として、デオドラント剤によるアポクリン臭の消臭・マスキング効果を的確に対応する判定結果を得ることができる。従って、アポクリン臭をターゲットとするデオドラント剤の有効性を、客観的且つ定量的に判定することができる。

本発明においては、アポクリン臭がある人の腋窩部の汗をインキュベーションすることによって、3-メルカプトアルコール化合物の含有量が特異的に増加する性質を利用して、本発明にかかる指標物質を生産することも可能になる。

本発明に係る体臭判定用キットは、少なくとも、人の汗由来のβ-ヒドロキシカルボン酸と反応する呈色試薬と共に、該β-ヒドロキシカルボン酸及び／又は汗由来のその他の体臭原因成分と該呈色試薬との反応及び呈色に基づく判定を補助す

る付属物が組み合わされた製品であり、補助のための付属物には、呈色反応又は判定に先立って必ず行われる前処理に用いる抽出手段など、必須のものと、呈色反応又は判定を容易化、簡易化するなど、利便性を高めるものがある。

- 体臭判定用キットは、例えば、腋窩部の汗からβ-ヒドロキシカルボン酸及び／又は該β-ヒドロキシカルボン酸以外の炭素数12以下の脂肪酸を抽出・分離するための器材および試薬を含み、かつ人の汗由来のβ-ヒドロキシカルボン酸及び／又はβ-ヒドロキシカルボン酸以外の炭素数12以下の脂肪酸と反応して発色する試薬を一つ以上含んでいる。さらに、前記キットには3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸を指標成分として含むこともできる。
- 10 β-ヒドロキシカルボン酸及び該β-ヒドロキシカルボン酸以外の炭素数12以下の脂肪酸の呈色反応を利用して、人の汗由来の体臭、特にアポクリン臭を判定する手順の概略を図8に示す。また体臭判定用キットに含まれる代表的な器材とその利用例を図9、図10に示す。

- 腋窩部の汗を採取する方法としては、温熱発汗により流れ出た汗を直接試験管等に採取する方法、わきの下に当たる部分に綿製のパッドを縫い付けたTシャツを一定時間着用する、または、ガーゼ等でわきの下の汗を直接拭き取るなどの方法がある。

- 汗に含まれる酸性物質を抽出する方法は、前記酸性物質を抽出できる方法であれば特に限定されないが、アルカリ性の水溶液による酸-塩基抽出法を用いるのが一般的である。アルカリ性の水溶液としては、炭酸水素ナトリウム水溶液、炭酸ナトリウム水溶液、水酸化ナトリウム水溶液、水酸化カリウム水溶液等が挙げられる。また、イオン交換樹脂を用いて前記酸性物質を抽出することも可能である。

- アポクリン臭の度合いを判定する方法としては、前記操作で抽出された酸性物質をβ-ヒドロキシカルボン酸と前記β-ヒドロキシカルボン酸以外の炭素数12以下の脂肪酸とに、それぞれ分離した後、分離されたβ-ヒドロキシカ

ルボン酸に対して呈色試薬を加えて、発現された色を観察する方法が挙げられる。

酸性物質中の β -ヒドロキシカルボン酸と該 β -ヒドロキシカルボン酸以外の炭素数12以下の脂肪酸を分離する方法は、分子の極性によって分離できる方法であれば、特に限定されるものではなく、ガラス管やプラスチック管内にシリカゲル粉末等の適当な吸着剤が充填された吸着クロマトグラフィー、ガラス又はプラスチックのプレート等にシリカゲル等の適当な吸着剤がコーティングされた薄層クロマトグラフィー等が利用できる。

吸着カラムクロマトグラフィー法は、ガラス管の上から前記酸性物質の溶液を流下させると、吸着力の強いものは上部に止まり、弱いものほど先に流れるので、吸着力の弱いものから順次流し出して分取できる。人の汗由来の酸性物質をサンプルとする場合、例えば図9に示すが如く、はじめにジエチルエーテルのような中極性溶媒を用いて、 β -ヒドロキシカルボン酸以外の炭素数12以下の脂肪酸を含むカルボン酸類を溶出した後、メタノールのような高極性溶剤を使って β -ヒドロキシカルボン酸を分取することができる。従って、メタノール画分に発色試薬を加えて呈色すれば、人の汗由来の β -ヒドロキシカルボン酸の存在が確認できる。また試験液の色相は、目視による官能評価だけでなく、分光光度計や色差計の機器測定により数値化することができる。

薄層クロマトグラフィー法は、極性に差がある分子をプレート上で分離する方法であり、例えば図10に示すが如く、人の汗由来の酸性物質をプレートの所定の位置に滴下した後、ジエチルエーテルのような中極性溶媒で展開すれば、 β -ヒドロキシカルボン酸以外の炭素数12以下の脂肪酸は溶媒とともに周りに広がっていくが、 β -ヒドロキシカルボン酸は滴下位置に残る。従って、滴下スポットの中心部に発色試薬を滴下して呈色すれば、汗由来の β -ヒドロキシカルボン酸の存在が確認できる。このように、薄層クロマトグラフィー法は、発色試薬を直接プレートに吹き付けることができるので、定性又は定量のため

の呈色試験が迅速に行える。

呈色反応を利用して β -ヒドロキシカルボン酸の有無や存在量を判定する方法としては、(1) β -ヒドロキシカルボン酸のヒドロキシル基、またはカルボキシル基に直接発色団を導入する方法、(2) β -ヒドロキシカルボン酸を誘導体に変換した後、誘導体に発色団を導入する方法、(3) β -ヒドロキシカルボン酸を分解した後、分解物に発色団を導入する方法等が挙げられる。

(1) β -ヒドロキシカルボン酸のヒドロキシル基、またはカルボキシル基に直接発色団を導入する方法に用いられる、 β -ヒドロキシカルボン酸のカルボキシル基と反応して発色する呈色試薬としては、 β -ヒドロキシカルボン酸を縮合剤の存在下、発色性の酸ヒドラジドに導いて呈色させる試薬、 β -ヒドロキシカルボン酸を発色性のエステルに導いて呈色させる試薬、 β -ヒドロキシカルボン酸を発色性のアミドに導いて呈色させる試薬等がある。

発色性の酸ヒドラジドに導く呈色試薬としては、2-ニトロフェニルヒドラジン、6,7-ジメトキシ-1-メチル-2(1H)-キノキサリノン-3-プロピオニルカルボン酸ヒドラジド(DMEQ-H)、p-(4,5-ジフェニル-1H-イミダゾール-2-イル)-ベンゾヒドラジド、p-(1-メチル-1H-フェナントロ-[9,10-d]イミダゾール-2-イル)-ベンゾヒドラジド、p-(5,6-ジメトキシ-2-ベンゾチアゾイル)-ベンゾヒドラジド等が挙げられる。

発色性のエステルに導いて呈色させる試薬としては、9-アンスリルジアゾメタン、1-ナフチルジアゾメタン、1-(2-ナフチル)ジアゾエタン、1-ピレニルジアゾメタン、4-ジアゾメチル-7-メトキシクマリン、4-ブロモメチル-7-メトキシクマリン、3-ブロモメチル-6,7-ジメトキシ-1-メチル-2(1H)-キノキサリノン、9-ブロモメチルアクリジン、4-ブロモメチル-6,7-メチレンジオキシクマリン、N-(9-アクリジニル)-プロモアセトアミド、2-(2,3-ナフチルイミノ)エチルトリフ

ルオロメタンスルホネート、2-(フタルイミノ)エチルトリフルオロメタンスルホネート、N-クロロメチルフタルイミド、N-クロロメチル-4-ニトロフタルイミド、N-クロロメチルイサチン、o-(p-ニトロベンジル)-N, N'-ジイソプロピルイソウレア等が挙げられる。

- 5 発色性のアミドに導いて呈色させる試薬としては、モノダンシルカダベリン、2-(p-アミノメチルフェニル)-N, N-ジメチル-2H-ベンゾトリアゾール-5-アミン等が挙げられる。

β -ヒドロキシカルボン酸のヒドロキシル基と反応して発色する呈色試薬としては、発色性の配位化合物に導いて呈色させる試薬、発色性のエステルに導

- 10 いて呈色させる試薬、発色性のエーテルに導いて呈色させる試薬等がある。発色性の配位化合物に導いて呈色させる試薬としては、硝酸セリウムアンモニウム等が挙げられる。発色性のエステルに導いて呈色させる試薬としては、4-(2-フタルイミジル)ベンゾイルクロライド、その異性体およびこの誘導体等が挙げられる。発色性のエーテルに導いて呈色させる試薬としては、4-
15 ジアゾメチル-7-メトキシクマリン等が挙げられる。

(2) β -ヒドロキシカルボン酸を誘導体に変換した後、誘導体に発色団を導入する方法において、呈色反応に利用できる β -ヒドロキシカルボン酸の誘導体としては、無機塩、ヒドロキサム酸、酸クロライド、銅錯体やコバルト錯体等が挙げられる。

- 20 β -ヒドロキシカルボン酸の無機塩は芳香族ハロゲンと反応させて発色性のエステルに、ヒドロキサム酸は発色性の金属塩に、酸クロライドは発色性のアミドに、ヒドロキシカルボン酸の銅錯体やコバルト錯体は、銅やコバルトに反応して呈色するキレート化合物に、それぞれ誘導する。

- β -ヒドロキシカルボン酸を無機塩に変換する方法としては、炭酸水素ナトリウム溶液、炭酸ナトリウム溶液、水酸化ナトリウム溶液、水酸化カリウム溶液等のアルカリ性物質と混合して中和する方法が挙げられる。ヒドロキシカル
25

ボン酸の無機塩と反応し、発色性のエステルに誘導できる芳香族ハロゲンとしては、p-ニトロベンジルブロミド、フェナシルブロミド、p-クロロフェナシルブロミド、p-ブロモフェナシルブロミド、p-ヨードフェナシルブロミド、p-ニトロフェナシルブロミド、p-フェニルフェナシルブロミド、p-フェニルアゾフェナシルブロミド、N, N-ジメチル-p-アミノベンゼンアゾフェナシルクロライド等が挙げられる。

β -ヒドロキシカルボン酸をヒドロキサム酸へ変換する方法としては、縮合剤の存在下、ヒドロキシルアミンと反応させる方法、ニッケルを触媒として、塩酸ヒドロキシルアミンと反応させる方法等が挙げられる。ヒドロキサム酸と発色性の錯塩を形成する金属試薬としては、塩化第二鉄、バナジウム等が挙げられる。

β -ヒドロキシカルボン酸を酸クロライドに変換する方法としては、オキサリルクロライドと反応させる方法等が挙げられる。酸クロライドを発色性のアミドに導く方法としては、トリエチルアミンの存在下、9-アミノフェナントレンと反応させる方法等が挙げられる。

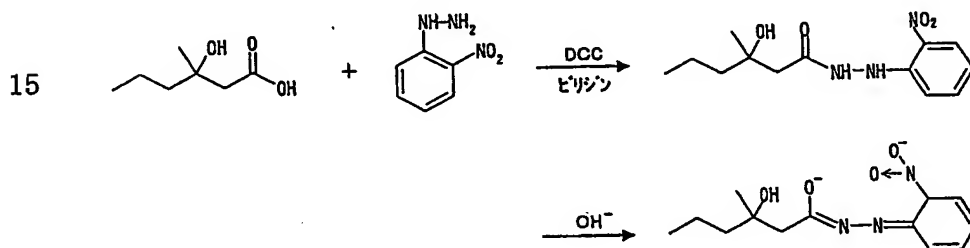
銅またはコバルトと発色性のキレート化合物(錯体)を形成する試薬としては、ジエチルジチオカルバミン酸、ビスクロヘキサノンオキサリルジヒドラゾン、バソクプロイン等が挙げられる。

(3) β -ヒドロキシカルボン酸を分解し、その分解物に対して発色させる方法としては、 β -ヒドロキシカルボン酸にアデノシン三リン酸(ATP)と補酵素C o Aの存在のもとで、アシル-C o Aシンテターゼを作用させて、アシル-C o Aを生成せしめ、次にアシル-C o Aオキシダーゼで処理して、エノイル-C o Aと過酸化水素を生成せしめ、さらに過酸化水素をカタラーゼで処理してホルムアルデヒドにし、これに呈色試薬である4-アミノ-3-ヒドラジノ-5-メルカプト-1, 2, 3-トリアゾール(AHMT)を反応させて、生じる紫色を比色する方法が挙げられる。

このように、本発明において、 β -ヒドロキシカルボン酸の呈色反応に用いられる試薬は β -ヒドロキシカルボン酸、 β -ヒドロキシカルボン酸誘導体、 β -ヒドロキシカルボン酸分解物のいずれかと反応して発色するものであれば特に限定されないが、人の汗由来の β -ヒドロキシカルボン酸に対する検出感
 5 度が高く、かつ肉眼で容易に比色できる2-ニトロフェニルヒドラジン(2-NPH)等のヒドラジノ基を有する化合物、また、検出感度が高く、温和な条件で反応が進行する9-アンスリルジアゾメタン(ADAM)等のジアゾメチル基を有する化合物が好適である。

2-ニトロフェニルヒドラジンをを用いた呈色反応とは、水またはアルコール
 10 溶液中、縮合剤の存在下、 β -ヒドロキシカルボン酸に2-ニトロフェニルヒドラジンを反応させ、アルカリ条件下で赤紫色を呈する酸ヒドラジドを生成せしめる反応である(反応式(7))。

反応式(7)



縮合剤としては、ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)または1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド(EDC)などが利用できる。
 20 またアルカリ化剤としては、水酸化カリウム水溶液等が利用できる。

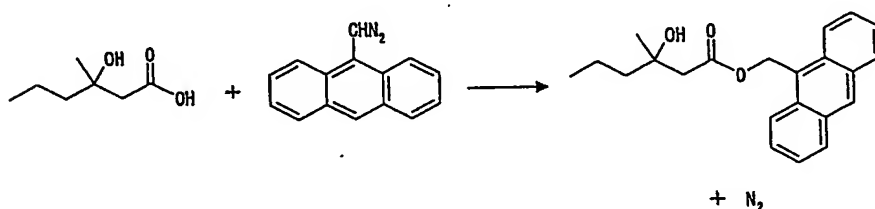
3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサノ酸0.01~0.05 μ Mを含む水またはアルコール溶液0.5 mLに2-ニトロフェニルヒドラジン塩酸塩0.02 Mを含む水またはアルコール溶液0.5 mLを加えた場合、試験液はやや茶色がかった黄色を呈する。また、3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサノ酸0.
 25 05~1 μ Mを含む水溶液またはアルコール溶液0.5 mLに対して、2-ニトロフェニルヒドラジン0.02 Mを含む水またはアルコール溶液0.5 mL

を加えた場合、試験液は赤茶色から濃い赤紫色に発色する。これに対して、ヒドロキシカルボン酸を全く含まない水またはアルコール溶液に対して、2-ニトロフェニルヒドラジンを含む水またはアルコール溶液を添加しても、酸ヒドラジドは生成しないため、試験液の色は未反応の2-ニトロフェニルヒドラジン由来の黄色のまま変化しない。

前述の如く、アポクリン臭の強さは、汗中の β -ヒドロキシカルボン酸の含有量に比例するので、試験液の発色の度合いを肉眼で観察することで、アポクリン臭の程度を確実に迅速かつ簡単に判定することができる。

9-アンスリルジアゾメタンを用いた呈色反応とは、 β -ヒドロキシカルボン酸を強蛍光性の9-アンスリルメチルエステルに導く方法である（反応式（8））。

反応式(8)



本反応は、触媒や加熱を必要とせず、室温、約10～60分で完了する。9-アンスリルメチルエステルは、メタノール中では、励起波長365nm、蛍光波長412nmの特性を持っている。

3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸0.01～0.05 μM を含むメタノール溶液に9-アンスリルジアゾメタンの1.0%メタノール又はアセトン溶液を添加した後、365nmの光で照らすと、やや青色がかった白色を呈し、さらに3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸0.05～0.1 μM を含むメタノール溶液に9-アンスリルジアゾメタンの1.0%メタノール又はアセトン溶液を添加した後、365nmの光で照らすと、試験液は強い青色の蛍光を放つ。一方、 β -ヒドロキシカルボン酸を全く含まない溶液に対して、9-ア

ンスリルジアゾメタンの 1.0%メタノールアルコール溶液を添加しても、強蛍光性のエステル体は生成しない。

前述の如く、アポクリン臭の強さは、汗中の β -ヒドロキシカルボン酸の含有量に比例するので、試験液の発色の度合いを肉眼で観察することで、アポクリン臭の程度を確実に迅速かつ簡単に判定することができる。

本発明においては、汗に含まれる β -ヒドロキシカルボン酸を腋窩部の汗から単離した後、呈色試薬により定量評価する際、化学合成された 3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸を標準物質（スタンダード）として用いることができる。

すなわち、計量済みの合成 3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸と呈色試薬との発色の度合いを基準にすることで、汗に含まれる β -ヒドロキシカルボン酸をより正確に定量できる。同時に β -ヒドロキシカルボン酸の存在量はアポクリン臭の強度に比例するので、アポクリン臭の程度を正確に判定することができる。

その際使用する 3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸の標準物質は、実験室内で相当濃度まで希釈して用いても良いが、比較に適した量を簡単に分取するため、メタノールやアセトン等の溶媒に希釈して利用した方が便利である。特に 1~100 μ g 範囲の 3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸を 100 μ L 程度の希釈液として、計り取れる程度に希釈された標準液を用いることが好ましい。

3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸等の β -ヒドロキシカルボン酸化合物及びその誘導体は、上述したように、レフォルマツキー反応を利用して合成することができる。

また本発明においては、比較したいサンプル間の着色の差が微妙な場合、あるいは、デオドラント剤の使用後やアポクリン汗腺の除去手術の後にアポクリン臭がどの程度軽減されたのかを判定する際、分析機器を用いて試験液の色相

を数値化することで、判定結果から主観性を排除することができる。

その際使用する分析機器としては、試験液の発色の程度を測定できるものであれば特に限定されないが、2-ニトロフェニルヒドラジンを用いた呈色反応により生成せしめる酸ヒドラジドには、比色計や紫外可視分光光度計等が利用できる。また、9-アンスリルジアゾメタンを用いた呈色反応により生成せしめる9-アンスリルメチルエステルには蛍光分光光度計等が利用できる。

さらに、本発明においては、わきが体質と言われる人の腋窩部から特異的に発生するアポクリン臭の程度だけでなく、わきが体質の有無に関わらず人の腋窩部から発生する酸臭（汗臭とも呼ばれる）の程度も迅速且つ簡単に判定することもできる。

アポクリン臭と酸臭の寄与の度合いを判定する方法としては、汗から抽出した酸性物質を、アポクリン臭の原因となる β -ヒドロキシカルボン酸と、酸臭の原因となる汗中の炭素数12以下の脂肪酸とに分離後、それぞれに対して呈色試薬を加えて、発現された色を観察する方法、又は、汗から抽出した酸性物質と、前記酸性物質から分離した β -ヒドロキシカルボン酸のそれぞれに対して呈色試薬を加えて、発現された色を観察する方法が挙げられる。

酸臭の程度を判定する方法としては、酸臭の原因となる汗中の β -ヒドロキシカルボン酸以外の炭素数12以下の脂肪酸に対して呈色試薬を加えればよい。例えば、図9の如く、吸着カラムクロマトグラフィーにおいて、展開溶媒として、ジエチルエーテルを用いて、 β -ヒドロキシカルボン酸以外の炭素数12以下の脂肪酸を中心とする汗由来の酸性成分を溶出した後、メタノールを使って β -ヒドロキシカルボン酸を溶出させ、得られたエーテル画分とメタノール画分に対し、それぞれ呈色試薬を加えて、発現された色を観察することによって、アポクリン臭と酸臭の寄与の度合いを迅速かつ簡単に判定することができる。

また、薄層クロマトグラフィーにおいては、薄層クロマトグラフィーのプレート

に人の汗から抽出した酸性物質を滴下し、そこに呈色試薬を滴下して、酸性物質全体を発色させる。酸性物質全体により発現する色は、アポクリン臭の主要な原因成分である β -ヒドロキシカルボン酸と、酸臭の主要な原因成分である β -ヒドロキシカルボン酸以外の炭素数12以下の脂肪酸の総量に対し、正の相関関係がある。

一方、別途用意した同様の薄層クロマトプレートに、抽出した同じ酸性物質を滴下し、展開溶媒にて β -ヒドロキシカルボン酸と、それ以外の脂肪酸を分離した後、滴下スポットの中心に残った β -ヒドロキシカルボン酸に呈色試薬を滴下して発色させる。こちらのプレートで発現する色は、アポクリン臭の主要な原因成分である β -ヒドロキシカルボン酸の量に対し、正の相関関係がある。従って、双方で発現した色を観察することで、アポクリン臭と酸臭の寄与の度合いを判定することができる。

従って、本発明に係る体臭判定キットを用いれば、個々の被験者における、アポクリン臭と酸臭の寄与の度合いについて迅速かつ簡単に判定することが可能である。

汗に含まれるカルボン酸と反応し、発色する呈色試薬としては、酸臭への寄与の大きい炭素数12以下の脂肪酸のカルボキシル基と反応するものであれば特に限定されないが、 β -ヒドロキシカルボン酸のカルボキシル基と反応して発色する前述の呈色試薬を利用することができる。

体臭のタイプ及び強さ、すなわち、汗由来の酸性物質に対するアポクリン臭と酸臭それぞれの寄与の程度を正確に判定するために、呈色試薬の反応性は、 β -ヒドロキシカルボン酸及び該 β -ヒドロキシカルボン酸以外の炭素数12以下の脂肪酸に対する特異性が高く、それ以外の酸性物質に対する呈色反応が弱いことが望ましい。

以上のように、本発明に係る体臭判定キットは、ガスクロマトグラフィーや液体クロマトグラフィー等の高価な分析機器を用いることなく、人の体臭又は体臭の一部である総合的な腋臭の程度を、腋窩部のアポクリン臭の有無及び強

弱を中心とし、さらに酸臭の有無及び 強弱を考慮して、確実に迅速かつ簡単に判定することが可能であるので、病院（皮膚科など）や保健所をはじめとする検査機関において、自己の腋臭に関心のある人に対してアポクリン臭の程度を診断する場合や、デオドラント剤やアポクリン汗腺の除去手術等の効果を判定する場合に利用することができる。

デオドラント剤の使用やアポクリン汗腺の除去手術等の体臭を軽減する努力が現状において功を奏しているかということ进行判定する場合には、例えば、デオドラント剤の使用前後における汗中の β -ヒドロキシカルボン酸及び／又は該 β -ヒドロキシカルボン酸以外の炭素数12以下の脂肪酸を、本体臭判定キットを用いて、定量評価し比較すれば良い。例えば、サンプルを採取した時期が異なっている場合には、最初に採取した汗サンプルが化学変化を起こさないように冷凍庫等の適当な場所に保管し同時に判定試験を実施しても良いし、汗中の β -ヒドロキシカルボン酸及び該 β -ヒドロキシカルボン酸以外の炭素数12以下の脂肪酸を定量評価をする際、試験液の色を分析機器により数値化しておけば、判定試験の実施時期が異なっても、正確に比較し評価することができる。

また、本発明に係る体臭判定キットは、アポクリン臭をターゲットとするデオドラント剤の開発研究において、デオドラント剤サンプルの有効性を評価する場合やわきが体質のある人をスクリーニングする場合に利用することができる。

アポクリン臭をターゲットとするデオドラント剤の有効性を判定する方法としては、例えば、 β -ヒドロキシカルボン酸を所定濃度で含有するサンプルに、所定量のデオドラント剤サンプルを添加し、 β -ヒドロキシカルボン酸の量、好ましくは3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸の量を本発明に係る本体臭判定キットを用いて評価することで、デオドラント剤サンプルの有効性を正確で迅速かつ簡単に判定することができる。

また、デオドラント剤サンプルを人の腋窩部に実際に適用し、適用の前後に各々採取した腋窩部の汗に含まれる β -ヒドロキシカルボン酸、好ましくは3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸を本発明に係る体臭判定キットを用いて評価し比較することも可能である。

- 5 以上に述べたキットの具体的な構成例としては、例えば、以下の様なものが挙げられるが、これらに限定されるわけではない。

(1) 人の汗を採取するための脱脂綿やプラスチックカップ等を、好ましくは、そのまま使用可能な状態に加工し、必要に応じて外装で梱包したパッケージ。

- 10 (2) 上記パッケージの構成要素に、人の汗から酸性物質を抽出するためのアルカリ水溶液や有機溶剤、分液ロート等の試薬、溶媒、器具を組み合わせたパッケージ。

- (3) 上記いずれかのパッケージの構成要素に、人の汗由来 β -ヒドロキシカルボン酸と、それ以外の炭素数12以下の脂肪酸を分離するために用いる、吸着クロマトグラフィーのカラムや薄層クロマトグラフィーのプレート等の器具
15 を組み合わせたパッケージ。

(4) 上記いずれかのパッケージの構成要素に、吸着又は薄層クロマトグラフィーにおいて、酸性物質から β -ヒドロキシカルボン酸以外の炭素数12以下の脂肪酸を溶出するために用いられる中極性溶媒を組み合わせたパッケージ。

- (5) 上記いずれかのパッケージの構成要素に、吸着クロマトグラフィーにお
20 いて、カラムから β -ヒドロキシカルボン酸を溶出するために用いられる高極性溶媒を組み合わせたパッケージ。

(6) 上記いずれかのパッケージの構成要素に、人の汗由来 β -ヒドロキシカルボン酸と反応する呈色試薬を、好ましくは、そのまま使用可能な組成又は濃度に調製した状態で容器に充填し、必要に応じて外装で梱包したパッケージ。

- 25 (7) 上記いずれかのパッケージの構成要素に、前記 β -ヒドロキシカルボン酸以外の炭素数12以下の脂肪酸と反応する呈色試薬を、好ましくは、そのま

ま使用可能な組成又は濃度に調製した状態で容器に充填し、必要に応じて外装で梱包したパッケージ。

- (8) 上記いずれかのパッケージの構成要素に、人の汗由来 β -ヒドロキシカルボン酸及び前記 β -ヒドロキシカルボン酸以外の炭素数 12 以下の脂肪酸と
- 5 反応する呈色試薬を、好ましくは、そのまま使用可能な組成又は濃度に調製した状態で容器に充填し、必要に応じて外装で梱包したパッケージ。

- (9) 上記いずれかのパッケージの構成要素に、汗に含まれる β -ヒドロキシカルボン酸を腋窩部の汗から単離した後、呈色試薬により定量評価する際、呈色反応前の予備調製（例えば、 β -ヒドロキシカルボン酸を誘導体化する等の
- 10 ため）に用いる補助試薬を組み合わせたパッケージ。

(10) 上記いずれかのパッケージの構成要素に、汗に含まれる β -ヒドロキシカルボン酸を腋窩部の汗から単離した後、呈色試薬により定量評価する際、試験液の呈色の度合いを確認するために使用する紫外線ランプ等の器具を組み合わせたパッケージ。

- 15 (11) 上記いずれかのパッケージの構成要素に、汗に含まれる β -ヒドロキシカルボン酸を腋窩部の汗から単離した後、呈色試薬により定量評価する際、標準物質（スタンダード）として用いる、好ましくは化学合成された 3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸または 3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸の希釈液を組み合わせたパッケージ。

- 20 (12) 上記いずれかのパッケージの構成要素に、汗に含まれる β -ヒドロキシカルボン酸を腋窩部の汗から単離した後、呈色試薬により定量評価する際、試験液の発色の程度を判断するための発色見本シートを組み合わせたパッケージ。

- (13) 上記いずれかのパッケージの構成要素に、呈色試薬の一回使用量の採取及び滴下が容易な、ピペット等の滴下手段を添付したパッケージ。
- 25

(14) 上記いずれかのパッケージの構成要素に、試験液の呈色の度合いを数

値化するために使用する色差計や分光光度計等の分析機器を組み合わせたパッケージ。

本発明の体臭判定キットは、アポクリン臭のある人の汗に特異的に存在するβ-ヒドロキシカルボン酸及び／又は酸臭の原因物質である該β-ヒドロキシカルボン酸以外の炭素数12以下の脂肪酸又はその誘導体又はその分解物の呈色反応を利用し、人の体臭又は体臭の一部である腋臭の程度を、腋窩部のアポクリン臭の有無及び強弱を中心とし、さらに酸臭の有無及び強弱を考慮して、
5 確実に迅速かつ簡単に判定することができる。

また、本発明の体臭判定キット及び判定方法は、呈色反応により発現された色相を、色差計等の分析機器を用い数値で表現することで、判定結果から主観性を排除することが可能である。
10

さらに、本発明の体臭判定キット及び判定方法は、病院、保健所、研究所等において、自己の腋臭に関心のある人に対してアポクリン臭の程度を診断する場合、アポクリン汗腺の除去手術等の効果を判定する場合、アポクリン臭をターゲットとするデオドラント剤サンプルの有効性を評価する場合等に、正確で
15 迅速且つ簡単な体臭判定キット及び判定方法として利用することができる。

実施例

以下の実施例により、本発明を更に説明し、本発明の実施態様を明示する。
20 提示される実施例は、単に例証のみを目的としているのであり、本発明を限定するものと解釈してはならない。

(実施例A)

1. 被験者のスクリーニング

25 健康な日本人男性65名を無作為に被験者として選び、新品の綿製白色Tシャツを24時間連続して着用してもらった。Tシャツを回収した後、腋窩部に

当たる部分について7人の専門パネラーによって腋臭の質と強さを官能評価した。

<匂いの評価項目>

- 5 酸臭：酸っぱくて、腐敗したような匂い。
クミン油様のアポクリン臭：スパイシー、ウッディで、動物的な匂い。
硫黄様のアポクリン臭：生臭く、しょうゆ、グレープフルーツ様の匂い。

<匂い強度の評価基準>

- 10 0：匂わない。
1：かすかに匂う。
2：弱く匂う。
3：匂う。
4：やや強く匂う。
15 5：かなり強く匂う。

その結果、腋臭がほとんど認められない（匂い強度がいずれも1以下）人が28人（以下、A群と呼ぶ）、弱い腋臭が認められた（匂い強度の最大スコアが2又は3）人が21人（以下、B群と呼ぶ）、強い腋臭が認められた（匂い強度の最大スコアが4又は5）人が16人であった（以下、C群と呼ぶ）。

強い腋臭が認められたC群の評価結果を表1に示す。表1に示すが如く、アポクリン臭被験者には、クミン油様の匂いが強いグループ（被験者識別記号1～3）と、硫黄様の匂いが強いグループ（被験者識別番号4～9）とが存在していることがわかった。

表 1 C群の官能評価結果

被験者 識別番号	官能評価結果		
	低級脂肪酸臭	アポクリン臭	
		クミン油様の匂い	硫黄様の匂い
1	3	5	4
2	3	5	3
3	2	5	4
4	4	4	5
5	4	4	5
6	3	3	5
7	3	3	4
8	2	3	4
9	3	3	4
10	4	2	2
11	4	2	1
12	4	2	1
13	4	1	2
14	5	0	0
15	4	0	0
16	4	0	0

2. クミン油様の匂いに対応する成分の解析

- 5 C群の中でクミン様のアポクリン臭が認められた13人(被験者識別番号1～13)を被験者とした。Tシャツの腋窩部に当る部分に綿パッドを縫い付け、このTシャツを被験者に24時間着用させた後に回収し、腋窩部の綿パッドをジエチルエーテルで抽出した。抽出物を酸-塩基抽出法を用いて、酸性部、中性部、塩基性部に分けて、ガスクロマトグラフィー-質量分析計(GC-MS)を用いて揮発性成分を分析した。腋窩部の汗の典型的な匂いを発生させる重要な成分は、匂い嗅ぎガスクロマトグラフィー(sniffing GC)により特定した。
- 10

<GC-MS分析条件>

装置：6890GC-5973MSD (Agilent Technology)

- 15 カラム：DB-WAX (60m×0.25mm×0.25μm)

温度条件：40℃(1分間)→(6℃/分)→60℃→(2℃/分)→300℃(40分間)

キャリアガス：He

イオン化電圧：70 eV

酸性抽出物を分析したところ、従来から確認されている飽和脂肪酸、3-メチル
5 ー2-ヘキセン酸、7-オクテン酸、γ-ラクトン類と共に、新たに3-ヒドロキシ
ー3-メチルヘキサン酸の存在が示された(図1)。この成分は匂い嗅ぎガスク
ロマトグラフィーにおいてアポクリン臭に極めて良く似た強い匂いを持っていた。
また、ピーク面積から酸性抽出物中に含まれる3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサ
ン酸の量を算出したところ、0.1~64.3 μgの範囲であり、定量可能な高い
10 濃度で存在していることがわかった。3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸は、
人の腋臭の構成成分としては今まで報告されたことがないが、被験者全員から検出
された。

次に、C群の中でアポクリン臭が全く認められなかった3人(被験者識別番号1
4~16)を被験者とした。Tシャツの腋窩部に当る部分に綿パッドを縫い付け、
15 このTシャツを被験者に24時間着用させた後に回収し、腋窩部の綿パッドをジエ
チルエーテルで抽出した。酸-塩基抽出法により酸性部を抽出してガスクロマトグ
ラフィー-質量分析計(GC-MS)を用いて分析した。

結果は図2に示す如く、いずれの被験者からも3-ヒドロキシ-3-メチル
ヘキサン酸は検出されなかった。

20 3. 3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸の定量

C群の中でアポクリン臭が強く感じられた5人(被験者識別番号1~5)、
C群の中でアポクリン臭が弱く感じられた4人(被験者識別番号10~13)、
C群の中でアポクリン臭が全く認められなかった3人(被験者識別番号14~
16)を被験者とした。Tシャツの腋窩部に当る部分に綿パッドを縫い付け、
25 このTシャツを被験者に24時間着用させた後に回収し、腋窩部の綿パッドを
ジエチルエーテルで抽出した。酸-塩基抽出法により酸性部を抽出した後、1

m l のメスフラスコ (DURAN 製) を用いて、等容量のエーテル希釈液を調製した。これをガスクロマトグラフィー質量分析計 (GC-MS) を用いて、3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸を定量した。定量値は既知濃度の3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸をGC-MSに注入し、ピーク面積から計算した。

アポクリン臭の有無又はその程度と3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸の検出量との関係を求めたところ、図3に示す如く、アポクリン臭が強くなるほど腋窩部における3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸の量が多かった。

4. 硫黄様の匂いに対応する成分の解析

10 C群の中で硫黄様のアポクリン臭が強かった3人(被験者識別番号4~6)を被験者とした。温度40℃、湿度80%に調節された部屋で、被験者の両腋窩部から流れ出る汗約1 mLを試験管に集めた。試験管に、Twister (100%ポリジメチルシロキサンをコーティングさせた攪拌子、別名: Stir Bar Sorptive Extraction, Gerstel社製)を入れ、30分間攪拌した後、熱脱着装置を装備したガスクロマトグラフィー質量分析計 (GC-MS) を用いて分析した。腋窩部の汗の典型的な匂いを発生させる重要な成分は、熱脱着装置を装備した匂い嗅ぎガスクロマトグラフィー (sniffing GC) により特定した。

<GC-MS分析条件>

20 装置: 6890GC-5973MSD (Agilent Technology)
カラム: DB-1 (60m×0.25mm×0.25μm)
温度条件: 40℃ (1分間) → (6℃/分) → 60℃ → (2℃/分) → 300℃ (40分間)
キャリアガス: He
25 イオン化電圧: 70 eV

汗に含まれるアポクリン臭の成分を 分析したところ、GC-MS分析（図4）では、新たに3-メルカプト-3-メチルヘキサノールの存在が示された。この溶出成分は匂い嗅ぎガスクロマトグラフィーにおいてアポクリン臭に極めて良く似た強い匂いを持っていた。また、ピーク面積から3-メルカプト-3-メチルヘキサノールの量を算出したところ、0.001~1.0 μ gの範囲であり、定量可能な濃度で存在していることがわかった。

3-メルカプト-3-メチルヘキサノールは、人の腋臭の構成成分としては今まで報告されたことがないが、被験者3人全員から検出された。

次に、C群の中でアポクリン臭が全く認められなかった3人（被験者識別番号14~16）を被験者とした。温度40℃、湿度80%に調節された部屋で、被験者の両腋窩部から流れ出る汗約1mLを試験管に集めた。試験管に、前記Twisterを入れて、10分間攪拌した後、熱脱着装置を装備したガスクロマトグラフィー質量分析計（GC-MS）を用いて分析した。結果は図5に示す如く、いずれの被験者からも3-メルカプト-3-メチルヘキサノールは検出されなかった。

15 C群の中で硫黄様のアポクリン臭が強かった3人（被験者識別番号4~6）、C群の中でアポクリン臭が全く認められなかった3人（被験者識別番号14~16）を被験者とした。温度40℃、湿度80%に調節された部屋で、被験者の両腋窩部から流れ出る汗約1mLを試験管に集めた。汗を嫌気環境下（酸素濃度0.1%以下、二酸化炭素濃度21%）、30℃で48時間インキュベーションした。インキュベーション後、試験管内に前記Twisterを入れて、10分間攪拌した後、熱脱着装置を装備したガスクロマトグラフィー質量分析計（GC-MS）を用いて分析した。腋窩部の汗の典型的な匂いを発生させる重要な成分は、熱脱着装置を装備した匂い嗅ぎガスクロマトグラフィー（sniffing GC）により特定した。

25 その結果、図6に示す如く、アポクリン臭がある人のインキュベーションした汗からは、3-メルカプト-3-メチルヘキサノール、3-メルカプトヘキ

サノール、3-メルカプトペンタノール、3-メルカプト-2-メチルペンタノール、3-メルカプト-2-メチルブタノールが同定された。これらの溶出成分は匂い嗅ぎガスクロマトグラフィーにおいてアポクリン臭に良く似た強い匂いを持っており、インキュベーションによって匂いがより強くなっていた。

- 5 これに対して、アポクリン臭のない、いずれの被験者の汗をインキュベーションしても、3-メルカプト-3-メチルヘキサノール、3-メルカプトヘキサノール、3-メルカプトペンタノール、3-メルカプト-2-メチルペンタノール、3-メルカプト-2-メチルブタノールは検出されなかった(図7)。

10 (実施例B)

1. 体臭判定用指標物質の調製

- 3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸(成分(A))、3-メルカプト-3-メチルヘキサノール(成分(C))について、成分(A):成分(C)=50:1, 100:1, 200:1の混合物の0.015%エタノール希釈品をそれぞれ実施
15 例B-1, B-2, B-3の体臭判定用指標物質とした。また、3-メチル-2-ヘキセン酸の0.015%エタノール希釈品を比較例B-2の体臭判定用指標物質とした。

2. 体臭判定用指標物質によるアポクリン臭に対する消臭、マスキング効果の評価

- 20 実施例AにおけるA群(腋臭がほとんど認められない)の中の6名を被験者とした。本発明に係る前記それぞれの体臭判定用指標物質(表2の実施例B-1~B-3)を用いて、前記被験者の腋窩部に1回噴霧(約30mg)し、アポクリン臭のない被験者の腋窩部に体臭判定用指標物質を付着させる。そして、前記体臭判定用指標物質が付着した被験者の腋窩部に、それぞれ市販のデオドラント製品A~Eで
25 約1秒間スプレーした後、その消臭及びマスキング効果について、専門パネラー10人(男女各5人)による官能評価を行った。

また、アポクリン臭のある被験者（実施例AにおけるC群の中で強いアポクリン臭が認められた6名（被験者識別番号1～6））の腋窩部に市販のデオドラント製品A～Eで約1秒間スプレーした後、その消臭及びマス킹効果について、専門パネラー10人（男女各5人）により官能的に評価を行った（比較例B-1）。

- 5 官能評価は、室温25℃、湿度65%の環境に保たれた室内で、1日に1種類ずつ、合計5種類の市販品（表2に示す市販のデオドラント製品A～E）について、各デオドラント剤で処理した後の腋窩部の匂いを下記基準で評価した。

<匂いの評価基準>

- 10 0：アポクリン臭が減少していない。
1：アポクリン臭がわずかに減少した。
2：アポクリン臭が減少した。
3：アポクリン臭がかなり減少した。

- 15 市販デオドラント製品の消臭・デオドラント効果は、専門パネラー10名の匂いの官能評価結果（平均値）により、下記の4段階で判定した。

<デオドラント剤の有効性評価基準（括弧内は表2における表記）>

- 0以上0.5未満：有効でない（×）
20 0.5以上1.5未満：やや有効である（△）
1.5以上2.5未満：有効である（○）
2.5以上3.0未満：かなり有効である（◎）

3. 評価の結果

- 体臭判定用指標物質で処理した被験者のデオドラント剤の処理による消臭効果
25 と実際のアポクリン臭のある被験者のデオドラント剤の処理による消臭効果とが
一致すればするほど、体臭判定用指標物質により再現されたアポクリン臭の正確さ

が実証されることになる。

表 2 に実際のアポクリン臭のある被験者のデオドラント剤の処理による消臭効果を基準（比較例 B-1）とし、比較例 B-2、実施例 B-1～B-3 の体臭判定用指標物質で処理した被験者のデオドラント剤の処理による消臭効果と比較した。

- 5 その結果、実施例 B-2 は完全に一致しており、実施例 B-1, B-3 はほぼ一致する結果を得ており、指標物質としての本願発明が正確にアポクリン臭を再現できることが実証され、本発明に係る指標物質を使ってデオドラント剤の消臭・マスキング効果を正確に評価できることが実証された。

- 10 これに対し、比較例 B-2 は比較例 B-1 との一致性が認められず、比較例 B-2 の 3-メチル-2-ヘキセン酸は、標識物質としてデオドラント剤の消臭・マスキング効果を評価することができず、アポクリン臭の再現が正確ではないことが実証された。

表 2 デオドラント製品の有効性（消臭・マスキング効果）評価結果

	比較例No.		実施例No.		
	B-1	B-2	B-1	B-2	B-3
デオドラント製品	腋窩部から自然に発生したアポクリン臭	3-メチル-2-ヘキセン酸	50:1 (成分A:成分C) 混合物	100:1 (成分A:成分C) 混合物	200:1 (成分A:成分C) 混合物
市販製品 A	△	×	△	△	△
市販製品 B	◎	△	○	◎	◎
市販製品 C	×	○	×	×	△
市販製品 D	△	×	△	△	○
市販製品 E	○	△	△	○	○
比較例 B-1 との一致性	—	一致しない	やや一致	完全に一致	やや一致

15

（実施例 C）

1. 被験者のスクリーニング

健康な日本人男性 65 名にボランティアとして協力してもらった。新品の綿

製白色Tシャツを24時間連続して着用してもらった。Tシャツを回収した後、7人の専門パネラーにより、Tシャツの腋窩部に当たる部分について、アポクリン臭の強さおよび酸臭の強さを下記基準で評価した。

<官能評価基準>

- 5 強度0： 匂わない。
- // 1： わずかに匂う。
- // 2： 弱く匂う。
- // 3： 匂う。
- // 4： やや強く匂う。
- 10 // 5： 非常に強く匂う。

その結果、被験者のうち、アポクリン臭については、強度3以上の人が10名、強度1又は2の人が3名、強度0の人が52名であった。

2. 3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸の定量

- 強度3以上のアポクリン臭が認められた人4名（被験者識別記号A～D）、
- 15 強度1又は2のアポクリン臭が認められた人3名（被験者識別記号E～G）、
- アポクリン臭が認められなかった人（強度0）3名（被験者識別記号H～J）
- を被験者とした。

- Tシャツの利き腕側の腋窩部に当たる部分に綿パッドを縫い付け、このTシャツを被験者に24時間着用させた後に回収し、酸-塩基抽出法を用いて腋窩
- 20 部の綿パッドから汗由来の酸性成分を抽出した。次にシリカゲルミニカラム（V
- a r i a n B o n d E l u t e J r）、ジエチルエーテル10mL、メタノール10mLを使用して、酸性抽出物をジエチルエーテル画分とメタノール画分に分離した。メタノール画分を一度濃縮した後、1mLのメスフラスコ（D
- U R A N製）を用いて、1mLの希釈液を調製した。

- 25 希釈液のうちの1μLを、ガスクロマトグラフィー-質量分析計（GC-M
- S）を用いて分析した。合成された3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸を

標準物質(スタンダード)として用い、検量線を作成し、汗に含まれる 3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸の量を測定した。

腋臭の官能評価結果および 3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸の定量結果を表 3 に示す。3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸は、アポクリン臭が認められるすべての被験者(被験者識別記号 A~G)のメタノール画分から検出された。一方、ジエチルエーテル画分からは、検出されなかった。

表 3

被験者 識別記号	官能評価		3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸 検出量 (ug)	
	アポクリン臭強度	酸臭強度	メタノール画分	エーテル画分
A	4	4	33.93	Not Detected
B	5	5	64.29	"
C	3	3	15.71	"
D	4	4	37.50	"
E	2	2	1.71	"
F	1	2	0.87	"
G	2	2	1.39	"
H	0	1	Not Detected	"
I	0	2	"	"
J	0	1	"	"

10 <官能評価基準>

強度 0 : 匂わない。

" 1 : わずかに匂う。

" 2 : 弱く匂う。

" 3 : 匂う。

15 " 4 : やや強く匂う。

" 5 : 非常に強く匂う。

強度 3 以上のアポクリン臭が認められる群(被験者識別記号 A~D)では、

3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン 酸の検出量は、15.71～64.29 μg の範囲内であった。強度1又は2のアポクリン臭が認められる群（被験者識別記号E～G）では、3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸の検出量は、0.87～1.71 μg の範囲内であった。一方、アポクリン臭が認められない（強度0）群（被験者識別記号H～J）では、3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸は、いずれの被験者からも検出されなかった。

（実施例D）

- 実施例Cで得られたメタノール画分（GC-MS分析のために1 μL 使用）を0.5 mLまで濃縮した後、スクリュウ栓付きの試験管（マルエム製、NR-10）に移し取った。色相を比較するためのブランクサンプル（メタノール0.5 mLを添加）とともに、40 mM塩酸-塩酸エタノール（3：1，v/v）で調製した20 mM 2-ニトロフェニルヒドラジン溶液100 μL 、3 v/v%ピリジンのエタノール溶液100 μL および250 mM EDC（1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル) カルボジイミド）のエタノール溶液100 μL を順次加えた。この混液を60℃で20分間加熱した後、水-メタノール混液（1：4，v/v）で調製した15%（w/v）水酸化カリウム液50 μL を加えた。60℃でブランクの褐色が消えるまで（15分間）加熱した。室温まで放冷後、肉眼で反応液の色を観察した。
- 結果を表4に示す。ブランクサンプルは、未反応試薬由来の明るい黄色を呈すが、3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸が検出された被験者のメタノール画分は、酸ヒドラジド生成に伴う赤紫色を呈した。色相は検出量に比例して、やや茶色がかった黄色から濃い赤紫色へ変化した。

表 4

被験者 識別記号	アポクリン臭 強度	3-ヒドロキシ-3-メチル ヘキサン酸の検出量 (ug)	呈色	試験液の色相
A	4	33.93	○	濃い赤紫色
B	5	64.29	○	非常に濃い赤紫色
C	3	15.71	○	やや濃い赤茶色
D	4	37.50	○	濃い赤紫色
E	2	1.71	○	やや茶色を帯びた黄色
F	1	0.87	○	やや茶色を帯びた黄色
G	2	1.39	○	やや茶色を帯びた黄色
H	0	Not Detected	×	明るい黄色 (ブランクと同等)
I	0	"	×	
J	0	"	×	

<評価基準>

- 5 ○： 色相の変化が十分に認められる。
 △： 色相の変化が認められる。
 ×： ブランクと同等で、変化が認められない。

強度 3 以上のアポクリン臭が認められる群では、反応液の色は赤から赤紫色
 10 の範囲であった。強度 1 又は 2 のアポクリン臭が認められる群では、反応液の
 色はやや茶色がかった黄色であった。一方、アポクリン臭が全く認められない
 群（強度 0）では、いずれの被験者の試験液も着色せず、ブランクサンプルと
 同等の色相であった。

次に、色彩色差計を用いて試験液の色相を数値化した。縦軸に色差（ ΔE^*a
 15 b）、横軸に実施例 C でのアポクリン臭の官能評価結果をとり、グラフ化した。
 結果は図 11 に示す如く、色差（ ΔE^*a b）は、アポクリン臭の強度に比例し
 て増加した。

<色差計による測定条件>

使用機器：ミノルタ色彩色差計CT-310

セル光路長：2mm

温度：23℃

- 5 ブランク試料の測定データを色差基準色 (L^*_t 、 a^*_t 、 b^*_t)、測定データを (L^* 、 a^* 、 b^*) として、下式により色差を求めた。

数1

$$\Delta E^*_{ab} = \sqrt{((\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2)}$$

ここで $\Delta L^* = L^* - L^*_t$

$\Delta a^* = a^* - a^*_t$

$\Delta b^* = b^* - b^*_t$

10

(実施例E)

- 実施例Cで得られたジエチルエーテル画分のうち、1mLをスクリー栓付きの試験管（マルエム製、NR-10）に移し取った。45℃の水浴上で溶媒を留去し、メタノール0.5mLを加えた後、色相を比較するためのブランク
- 15 サンプル（メタノール0.5mLを添加）とともに、実施例Dと同様の手順で、発色試薬を使って呈色させた。実施例Dで得られたメタノール画分とともに、可視-紫外分析計を用いて色相を数値化した。縦軸にメタノール画分の吸光度、横軸にエーテル画分の吸光度を取り、個々の被験者における、アポクリン臭と酸臭の寄与の度合いについて評価した。

- 20 結果は図12に示すが如く、酸性抽出物のメタノール画分の呈色が強い人、すなわち、アポクリン臭が認められる人は、ジエチルエーテル画分の呈色（吸収）も強い傾向があった。一方、アポクリン臭が認められない人、すなわち、メタノール画分が呈色しない人は、ジエチルエーテル画分の呈色（吸収）も弱い傾向があった。

- 25 <紫外-可視分光計による測定条件>

使用機器：BECHMAN DU-600

セル光路長：10 mm

温度：23℃

データ測定方法：530 nmにおける、サンプルの吸収スペクトルからブランク試料の吸収スペクトルを差し引いたスペクトルのピーク面積を測定した。

5

(実施例F)

実施例Cの被験者10名を実施例Fの被験者とした。実施例Cと同様の方法で分離した汗の酸性抽出物のメタノール画分を0.5 mlまで濃縮した後、試験管に移した。色相を比較するためのブランクサンプル（メタノール0.5 mlを添加）とともに、9-アンスリルジアゾメタンの1.0%アセトン溶液25 μ Lを加え、密栓をして、約1時間室温で放置した。その後、紫外線ランプ（ウルトラバイオレット社製／長波長365 nm型）を用いて、発生する蛍光を肉眼で観察した。結果は表5に示す。

15 表5

被験者 識別記号	アポクリン臭 強度	呈色	試験液の蛍光
A	4	○	非常に強い
B	5	○	非常に強い
C	3	○	やや強い
D	4	○	非常に強い
E	2	○	強い
F	1	○	強い
G	2	○	強い
H	0	×	弱い (ブランクと同等)
I	0	×	
J	0	×	

表5において、実施例Cでアポクリン臭が認められた被験者のサンプルは、アポクリン臭の強度に比例してより強い蛍光を発する結果を示した。これに対

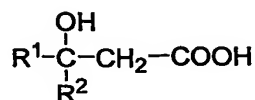
してブランクサンプルからは強い蛍光が観察されなかった。

請 求 の 範 囲

1. 下記成分 (A)、成分 (B)、成分 (C) 及び、成分 (D) よりなる群から選ばれる少なくとも一つを含有する体臭判定用指標物質。

5 (A) 下記式 (1) で表される β -ヒドロキシカルボン酸化合物

式(1)



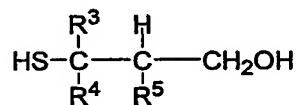
(式中、 R^1 は炭素数 1 乃至 4 のアルキルであり、 R^2 は水素原子又は炭素数 1 乃至 4 のアルキルであり、式 (1) の総炭素数が 10 以下である。)

(B) 前記式 (1) で表される β -ヒドロキシカルボン酸化合物のヒドロキシル基及び／又はカルボキシル基に原子又は原子団を導入してなる β -ヒドロキシカ

10 ルボン酸誘導体

(C) 下記式 (2) で表される 3 位にメルカプト基を有するアルコール化合物

式(2)



(式中、 R^3 は水素原子またはメチル基、 R^4 は炭素数 1 乃至 3 のアルキル基、 R^5 は水素原子またはメチル基であり、式 (2) の総炭素数が 8 以下である。)

(D) 前記式 (2) で表される 3 位にメルカプト基を有するアルコール化合物の

15 メルカプト基及び／又はヒドロキシル基に原子又は原子団を導入してなる 3 位にメルカプト基を有するアルコール化合物の誘導体

2. 前記成分 (A) 及び／又は成分 (B) を含有する請求の範囲第 1 項に記載の体臭判定用指標物質。

3. 前記成分 (C) 及び／又は成分 (D) を含有する請求の範囲第 1 項に記載の体臭判定用指標物質。

4. 前記成分 (A) 及び／又は成分 (B) と、成分 (C) 及び／又は成分 (D) とを含有する請求の範囲第 1 項に記載の体臭判定用指標物質。

5. 前記成分 (A) と、成分 (C) とを含有する請求の範囲第 4 項に記載の体臭判定用指標物質。

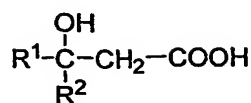
6. 前記成分 (B) と、成分 (D) とを含有する請求の範囲第 4 項に記載の体臭判定用指標物質。

7. 前記成分 (C) と成分 (A) の質量比 (成分 (C) : 成分 (A)) は、1 : 10 ~ 1 : 1000 である請求の範囲第 5 項に記載の体臭判定用指標物質。

8. 下記成分 (A)、成分 (B)、成分 (C) 及び、成分 (D) よりなる群から選ばれる少なくとも一つを指標として用いる体臭判定方法。

(A) 下記式 (1) で表される β -ヒドロキシカルボン酸化合物

式(1)



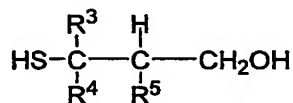
(式中、 R^1 は炭素数1乃至4のアルキルであり、 R^2 は水素原子又は炭素数1乃至4のアルキルであり、式(1)の総炭素数が10以下である。)

(B) 前記式(1)で表される β -ヒドロキシカルボン酸化合物のヒドロキシル基及び／又はカルボキシル基に原子又は原子団を導入してなる β -ヒドロキシカル

5 ルボン酸誘導体

(C) 下記式(2)で表される3位にメルカプト基を有するアルコール化合物

式(2)



(式中、 R^3 は水素原子またはメチル基、 R^4 は炭素数1乃至3のアルキル基、 R^5 は水素原子またはメチル基であり、式(2)の総炭素数が8以下である。)

(D) 前記式(2)で表される3位にメルカプト基を有するアルコール化合物の
10 メルカプト基及び／又はヒドロキシル基に原子又は原子団を導入してなる3位に
メルカプト基を有するアルコール化合物の誘導体

9. 前記成分(A)、成分(B)、成分(C)及び、成分(D)よりなる群
から選ばれる少なくとも一つを含有する指標物質を用いる請求の範囲第8項に
15 記載の体臭判定方法。

10. 前記成分(A)及び／又は成分(B)を指標として用いる請求の範囲

第 8 項に記載の体臭判定方法。

1 1. 前記成分 (C) 及び／又は成分 (D) を指標として用いる請求の範囲第 8 項に記載の体臭判定方法。

5

1 2. 前記成分 (A) 及び／又は成分 (B) と、成分 (C) 及び／又は成分 (D) とを指標として用いる請求の範囲第 8 項に記載の体臭判定方法。

1 3. 前記成分 (A) と、成分 (C) とを指標として用いる請求の範囲第 1
10 2 項に記載の体臭判定方法。

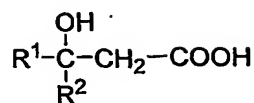
1 4. 前記成分 (B) と、成分 (D) とを指標として用いる請求の範囲第 1
2 項に記載の体臭判定方法。

15 1 5. 前記成分 (C) と成分 (A) の質量比 (成分 (C) : 成分 (A)) は、
1 : 1 0 ~ 1 : 1 0 0 0 である指標物質を用いる請求の範囲第 1 3 項に記載の
体臭判定方法。

1 6. 下記成分 (A)、成分 (B)、成分 (C) 及び、成分 (D) よりなる群か
20 ら選ばれる少なくとも一つを指標として用いるデオドラント剤の有効性判定方法。

(A) 下記式 (1) で表される β -ヒドロキシカルボン酸化合物

式(1)



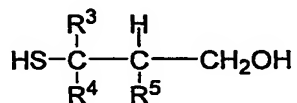
(式中、 R^1 は炭素数1乃至4のアルキルであり、 R^2 は水素原子又は炭素数1乃至4のアルキルであり、式(1)の総炭素数が10以下である。)

(B) 前記式(1)で表される β -ヒドロキシカルボン酸化合物のヒドロキシル基及び／又はカルボキシル基に原子又は原子団を導入してなる β -ヒドロキシカ

5 ルボン酸誘導体

(C) 下記式(2)で表される3位にメルカプト基を有するアルコール化合物

式(2)



(式中、 R^3 は水素原子またはメチル基、 R^4 は炭素数1乃至3のアルキル基、 R^5 は水素原子またはメチル基であり、式(2)の総炭素数が8以下である。)

(D) 前記式(2)で表される3位にメルカプト基を有するアルコール化合物の
10 メルカプト基及び／又はヒドロキシル基に原子又は原子団を導入してなる3位に
メルカプト基を有するアルコール化合物の誘導体

17. 前記成分(A)、成分(B)、成分(C)及び、成分(D)よりなる群から選ばれる少なくとも一つを含有する指標物質を用いる請求の範囲第16項に記載のデオドラント剤の有効性判定方法。
15

18. 前記成分(A)及び／又は成分(B)を指標として用いる請求の範囲第1

6項に記載のデオドラント剤の有効性 判定方法。

日本国特許庁 07.01.04

19. 前記成分 (C) 及び／又は成分 (D) を指標として用いる請求の範囲第 16項に記載のデオドラント剤の有効性判定方法。

5

20. 前記成分 (A) 及び／又は成分 (B) と、成分 (C) 及び／又は成分 (D) とを指標として用いる請求の範囲第 16項に記載のデオドラント剤の有効性判定方法。

10 21. 前記成分 (A) と、成分 (C) とを指標として用いる請求の範囲第 20項に記載のデオドラント剤の有効性判定方法。

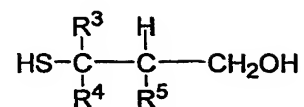
22. 前記成分 (B) と、成分 (D) とを指標として用いる請求の範囲第 20項に記載のデオドラント剤の有効性判定方法。

15

23. 前記成分 (C) と成分 (A) の質量比 (成分 (C) : 成分 (A)) は、1 : 10 ~ 1 : 1000 である指標物質を用いる請求の範囲第 21項に記載のデオドラント剤の有効性判定方法。

20 24. 人由来の汗を酸素濃度 10 v/v% 以下の環境下にてインキュベーションし、式 (2) で表される 3 位にメルカプト基を有するアルコール化合物を生産する方法。

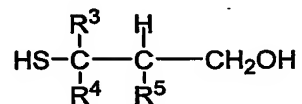
式(2)



(式中、 R^3 は水素原子またはメチル基、 R^4 は炭素数1乃至3のアルキル基、 R^5 は水素原子またはメチル基であり、式(2)の総炭素数が8以下である。)

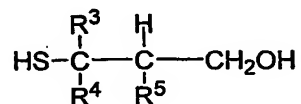
25. 人由来の汗を酸素濃度10v/v%以下の環境下にてインキュベーションし、式(2)で表される3位にメルカプト基を有するアルコール化合物を生産し、生産された当該化合物を指標として用いる体臭判定方法。

式(2)



26. 人由来の汗を酸素濃度10v/v%以下の環境下にてインキュベーションし、式(2)で表される3位にメルカプト基を有するアルコール化合物を生産し、生産された当該化合物を指標として用いるデオドラント剤の有効性判定方法。

式(2)



27. 人の汗由来 β -ヒドロキシカルボン酸と反応する呈色試薬を含む人の体臭判定キット。

28. 前記 β -ヒドロキシカルボン酸以外の炭素数12以下の脂肪酸と反応する呈色試薬をさらに含む請求の範囲第27項に記載の人の体臭判定キット。

5 29. 前記試薬が、ヒドラジノ基又はジアゾメチル基を有する化合物を必須成分とする請求の範囲第27項又は請求の範囲第28項に記載の判定キット。

30. 前記試薬が、2-ニトロフェニルヒドラジン又は9-アンスリルジアゾメタンである請求の範囲第29項に記載の判定キット。

31. 人の汗に含まれる β -ヒドロキシカルボン酸及び前記 β -ヒドロキシカルボン酸以外の炭素数12以下の脂肪酸の混合物を抽出する第1ステップと、
10 前記混合物に前記試薬を加えて発色させる第2ステップと、
前記第2ステップにおいて発色した色によって体臭のタイプ及び／又はその強さを判定する第3ステップとを含む、人の体臭を判定する方法。

32. 人の汗に含まれる β -ヒドロキシカルボン酸及び前記 β -ヒドロキシカルボン酸以外の炭素数12以下の脂肪酸の混合物を抽出する第1ステップと、
15 前記混合物から β -ヒドロキシカルボン酸を分離する第2ステップと、
前記第2ステップにおいて分離された β -ヒドロキシカルボン酸に前記試薬を反応させて発色させる第3ステップと、

前記第3ステップにおいて発現された色によって体臭のタイプ及び／又はその強さを判定する第4ステップとを含む、人の体臭を判定する方法。
20

33. 人の汗に含まれる β -ヒドロキシカルボン酸及び前記 β -ヒドロキシカルボン酸以外の炭素数12以下の脂肪酸の混合物を抽出する第1ステップと、

前記混合物を β -ヒドロキシカルボン酸と前記 β -ヒドロキシカルボン酸以外の炭素数12以下の脂肪酸とにそれぞれ分離する第2ステップと、

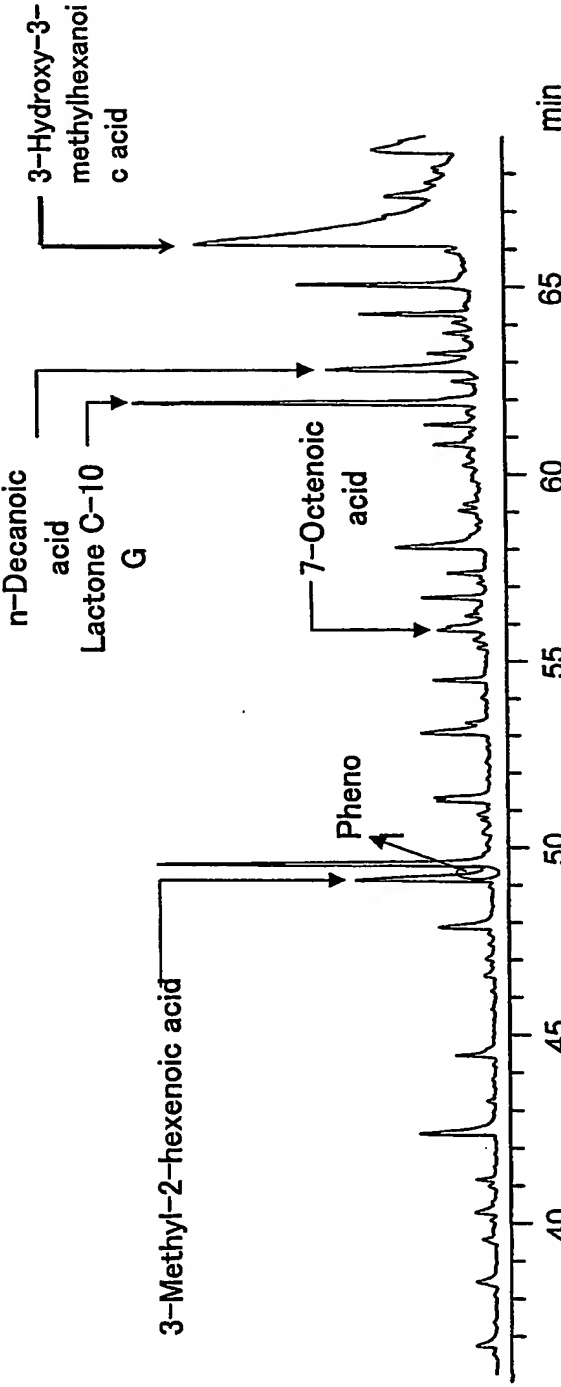
25 前記第2ステップにおいて分離された β -ヒドロキシカルボン酸に前記試薬を反応させて発色させる第3ステップと、

前記第2ステップにおいて分離された β -ヒドロキシカルボン酸以外の炭素数12以下の脂肪酸に前記試薬を反応させて発色させる第4ステップと、

前記第3ステップ及び第4ステップにおいて発現された色によって体臭のタイプ及び／又はその強さを判定する第5ステップとを含む、人の体臭を判定す
30

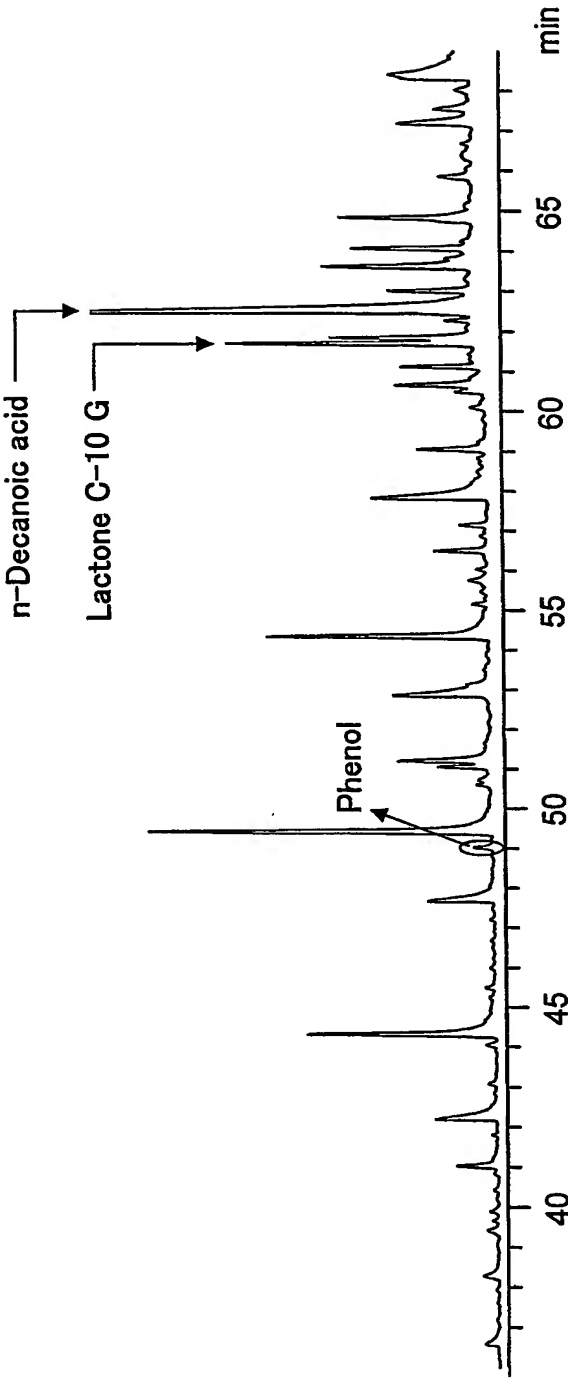
る方法。

図1



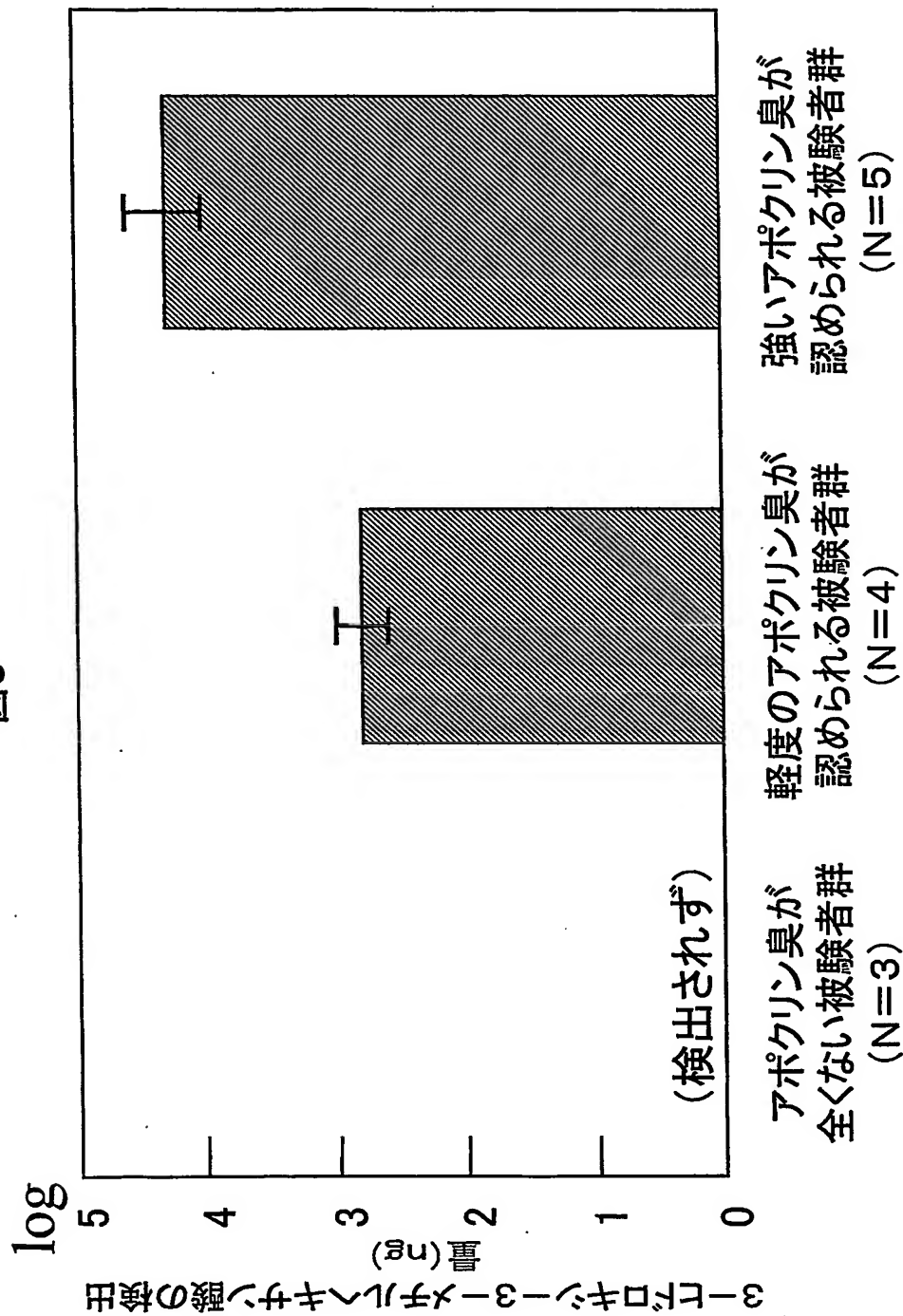
アポクリン臭がある人の汗の酸性抽出物のトータルイオンクロマトグラム

図2

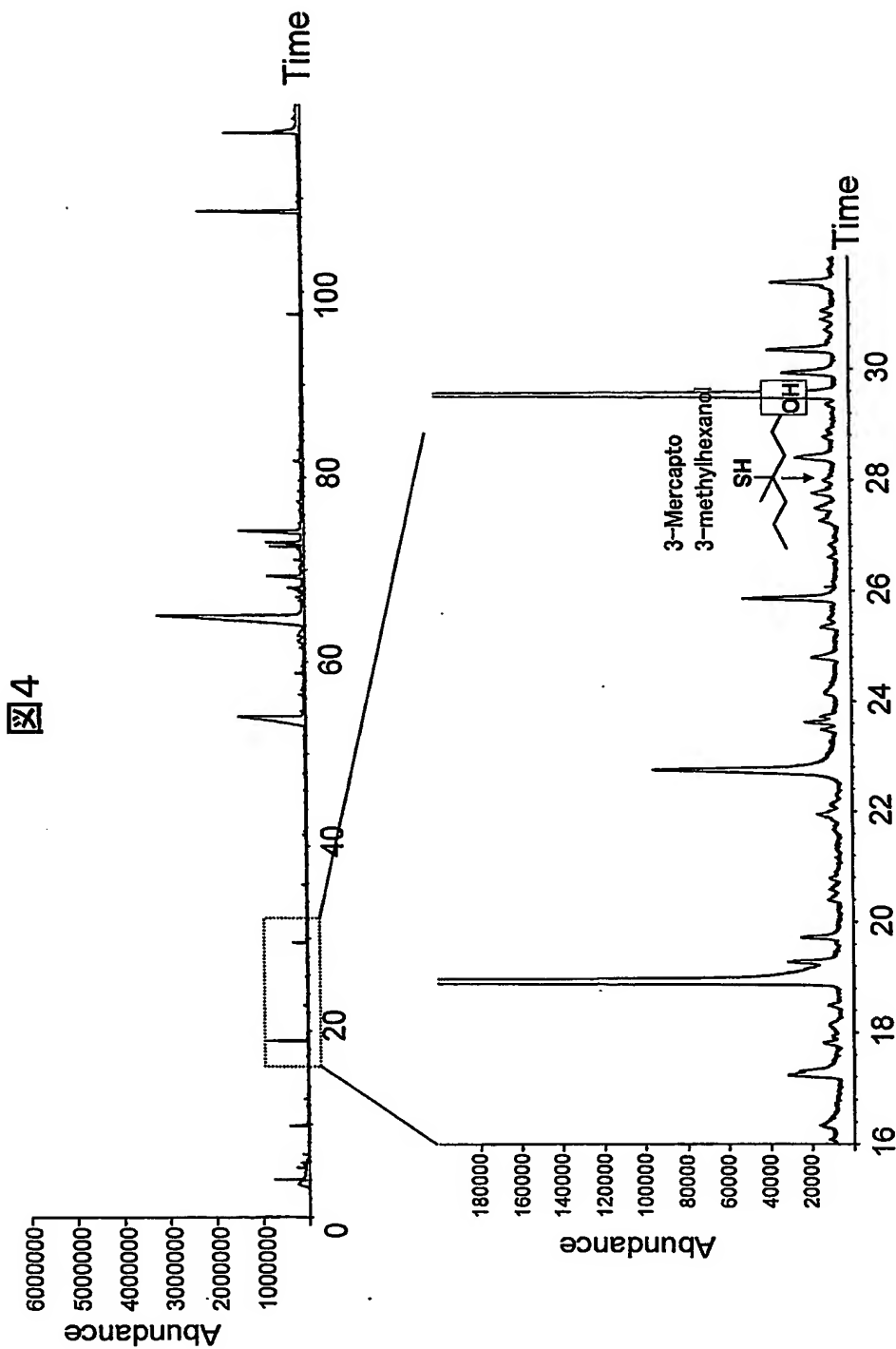


アポケリン臭がない人の汗の酸性抽出物のトータルイオンクロマトグラム

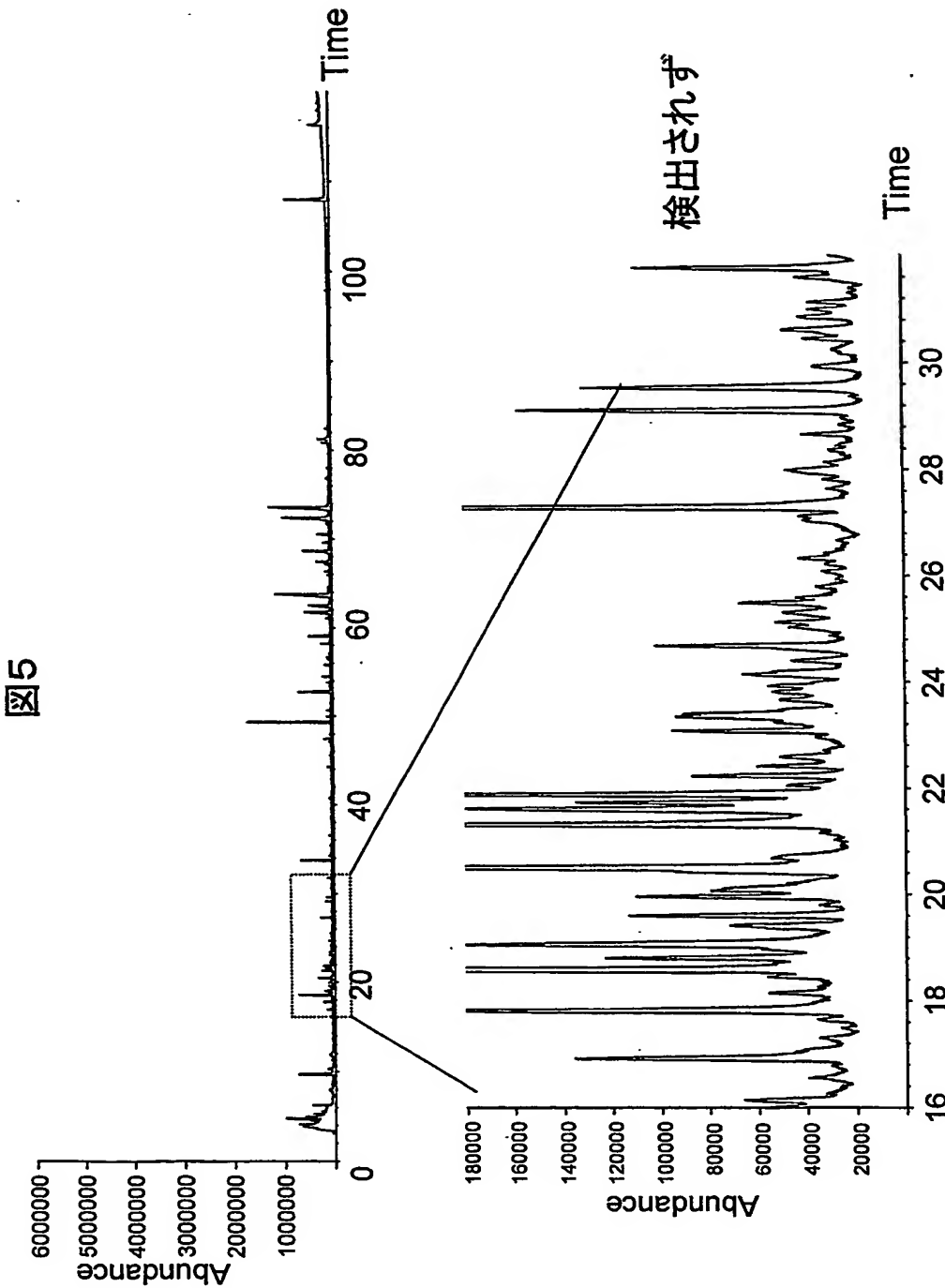
図3



3-ヒドロキシ-3-メチルヘキサン酸とアポクリン臭の関係

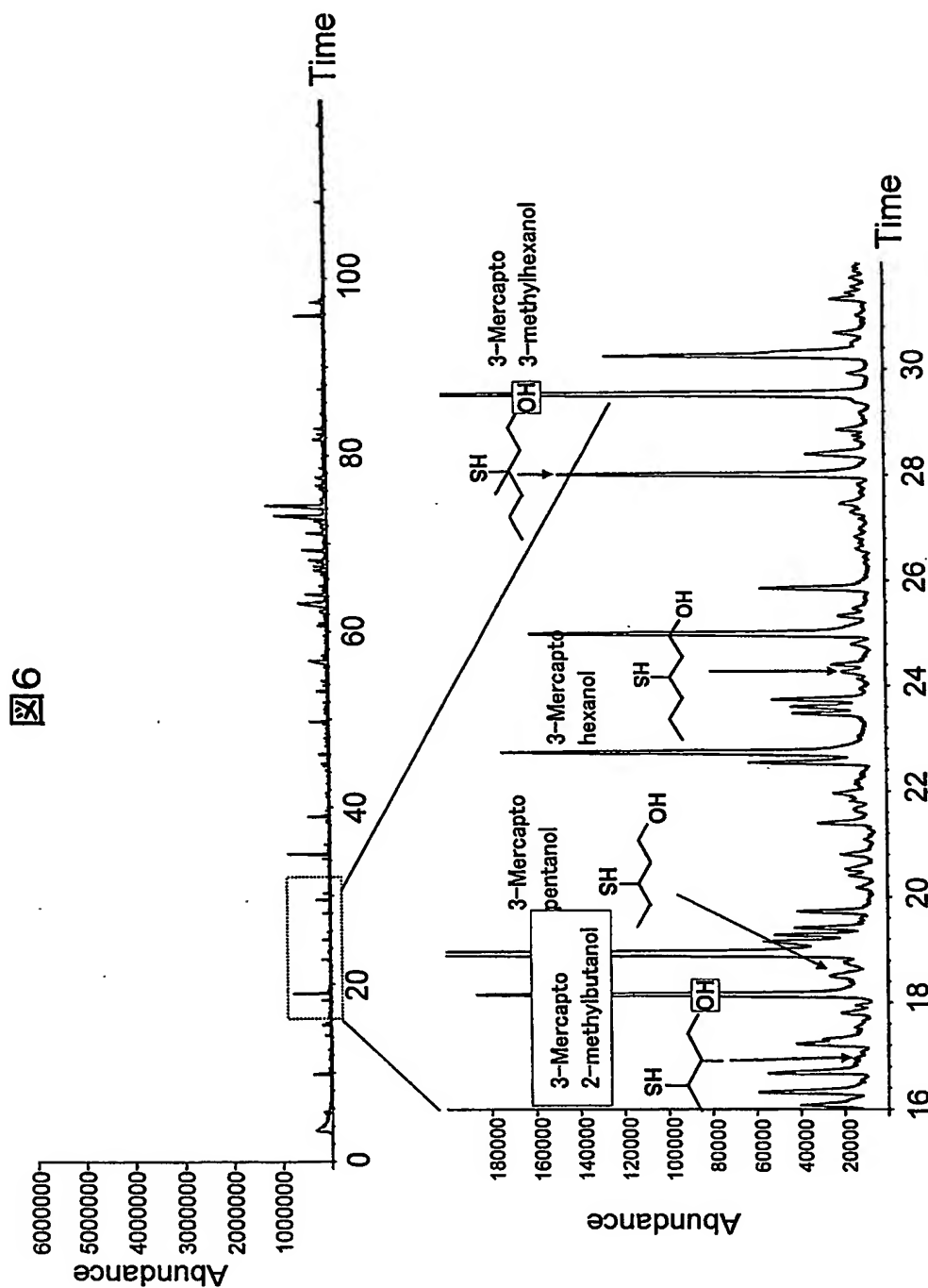


アポクリン臭がある人の汗中の揮発成分のトータルイオンクロマトグラム



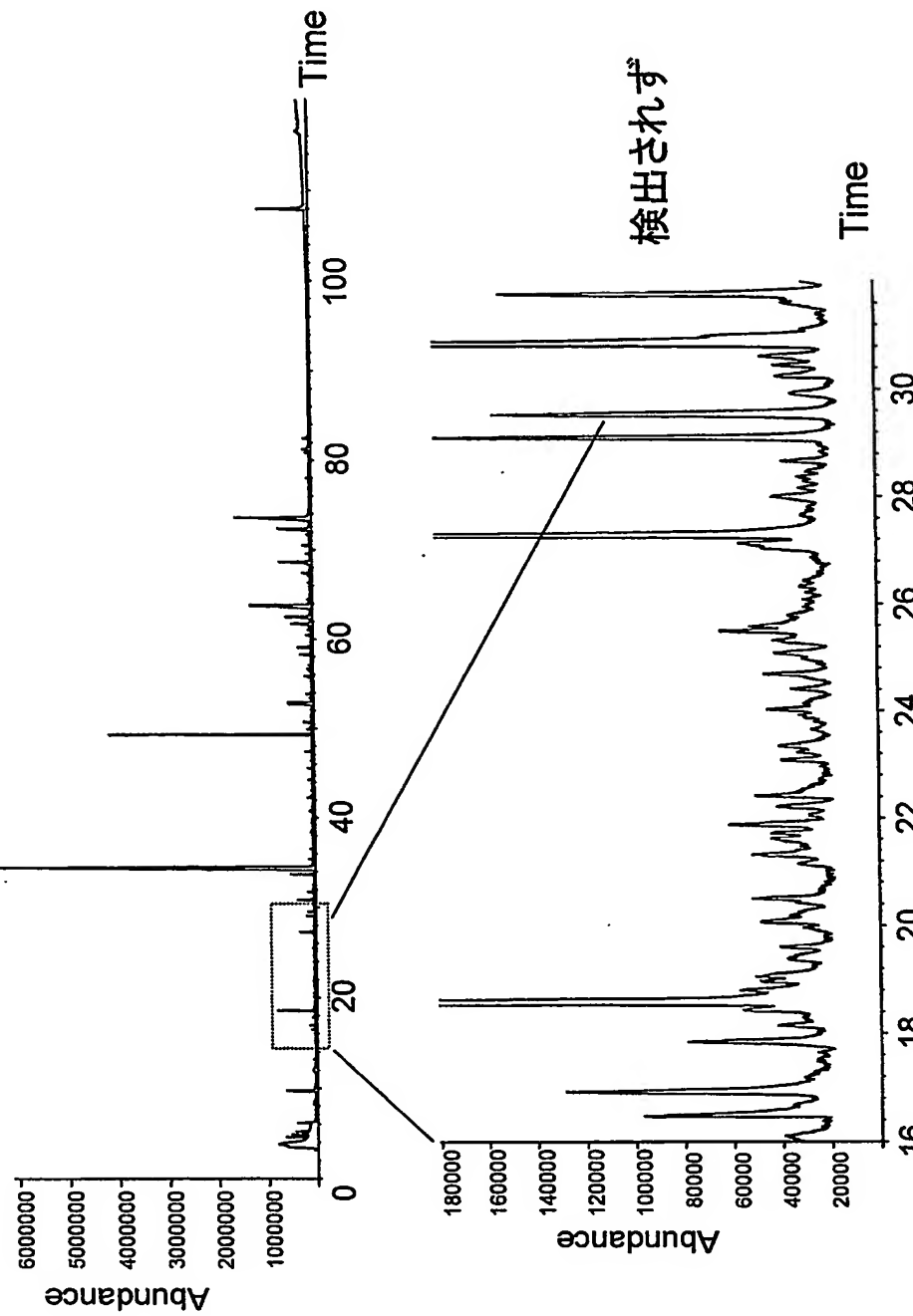
アポクリン臭がない人の汗中の揮発成分のトータルイオンクロマトグラム

6/11



アポクリン臭がある人のインキュベーション汗中の揮発成分
のトータルイオンクロマトグラム

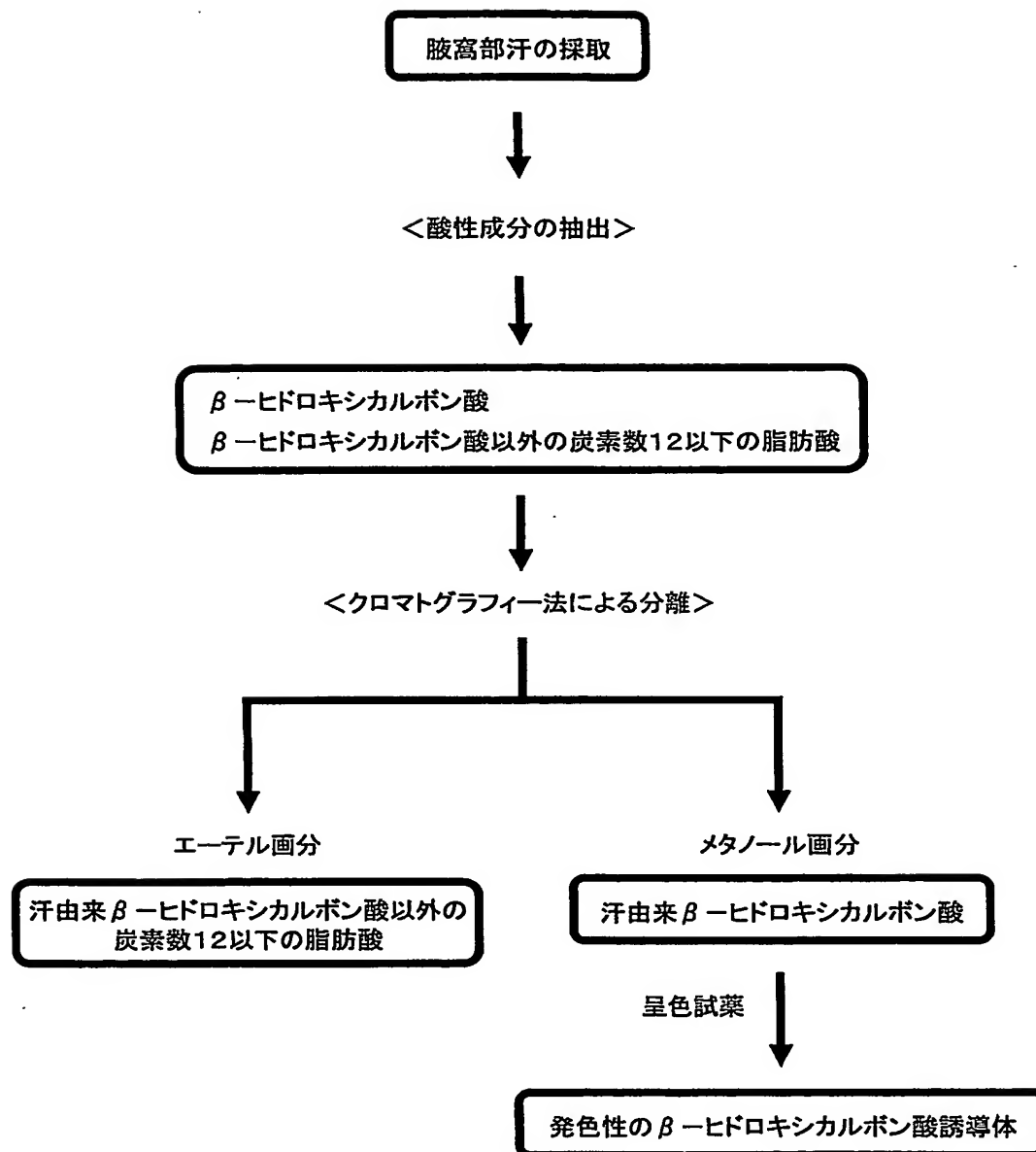
図7



アポクリン臭がない人のインキュベーション汗中の揮発成分
のトータルイオンクロマトグラム

8/11

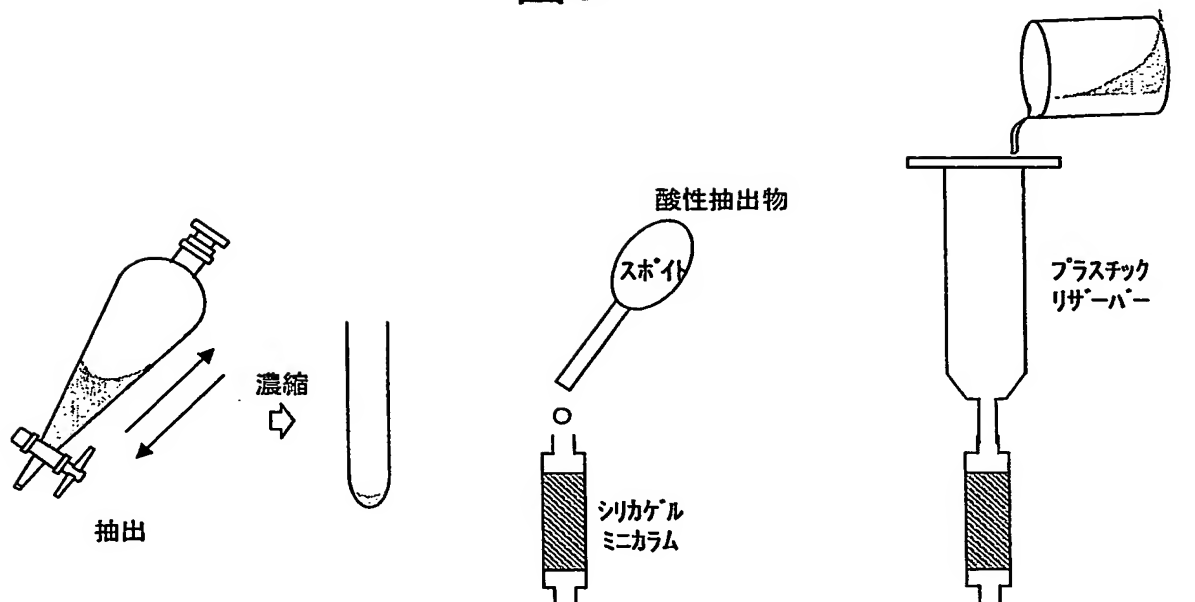
図8



呈色反応を利用した体臭の迅速かつ簡便な検査方法

9/11

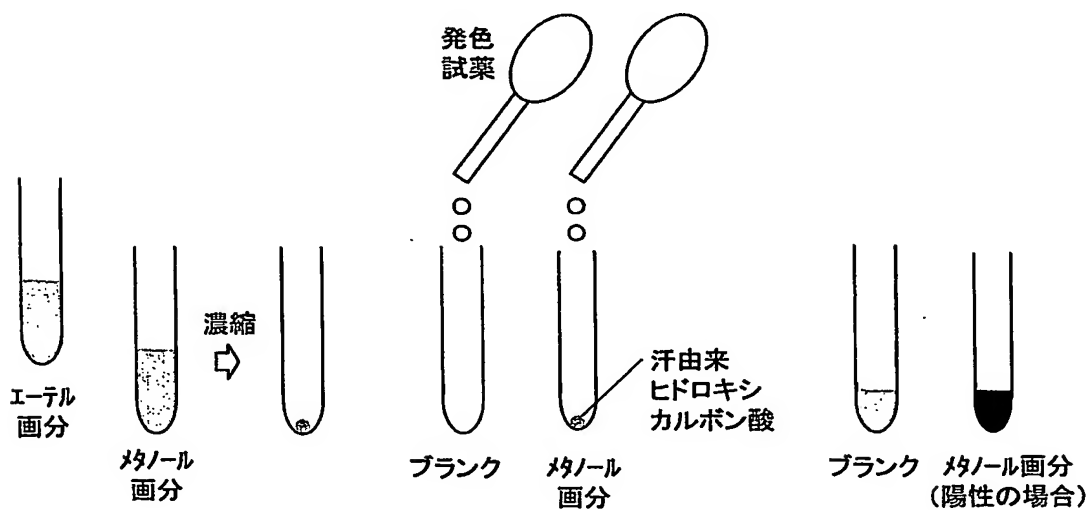
図9



1. 酸性成分を抽出した後、濃縮する。

2. 酸性抽出物を分離用カラム上部に滴下する。

3. 展開溶媒を加えてエーテル画分とメタノール画分に分ける。



4. メタノール画分を濃縮する。

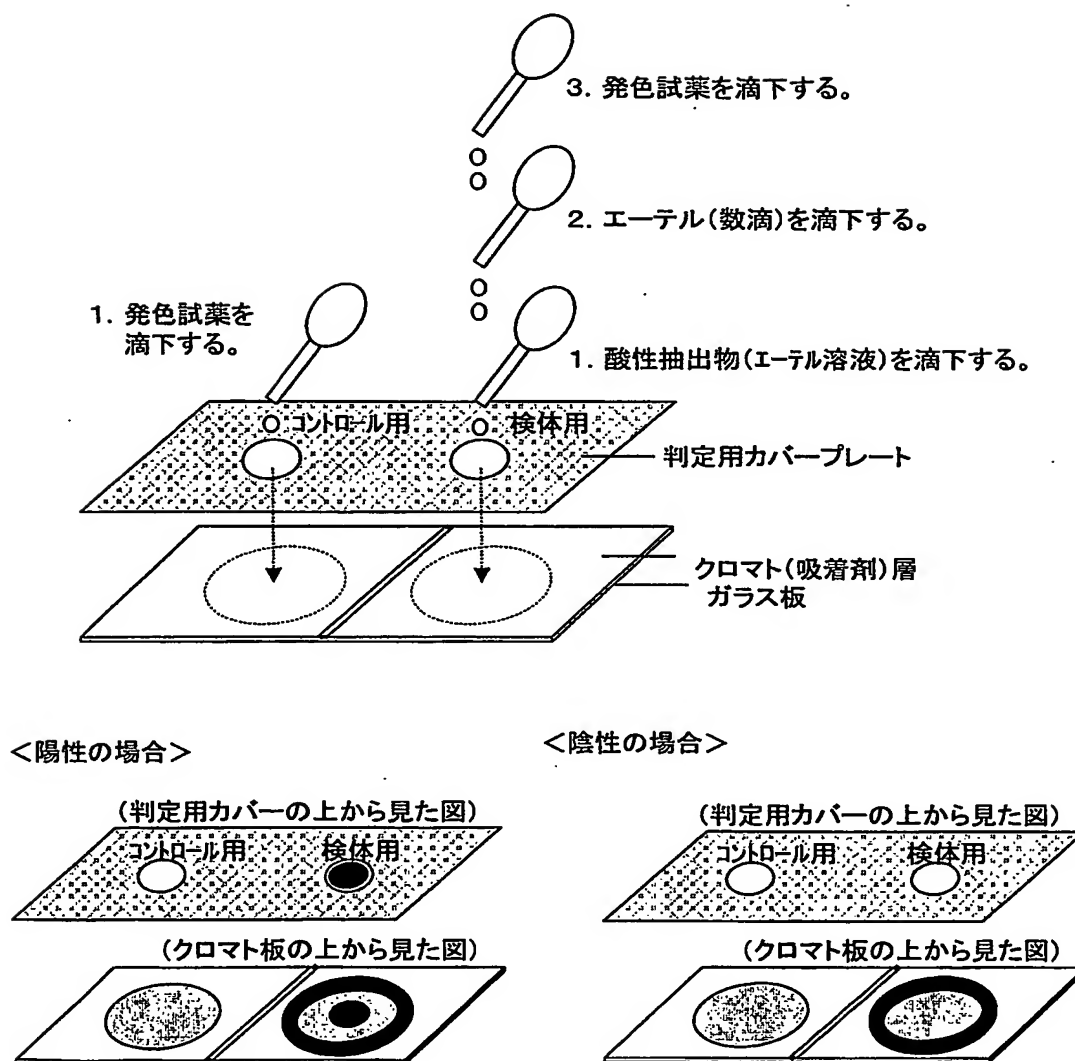
5. 発色試薬を加える。

6. 比色判定(ブランクと比較)

体臭簡易判定キットの使用例(1)

10/11

図10



体臭簡易判定キットの使用例(2)

11/11

図11

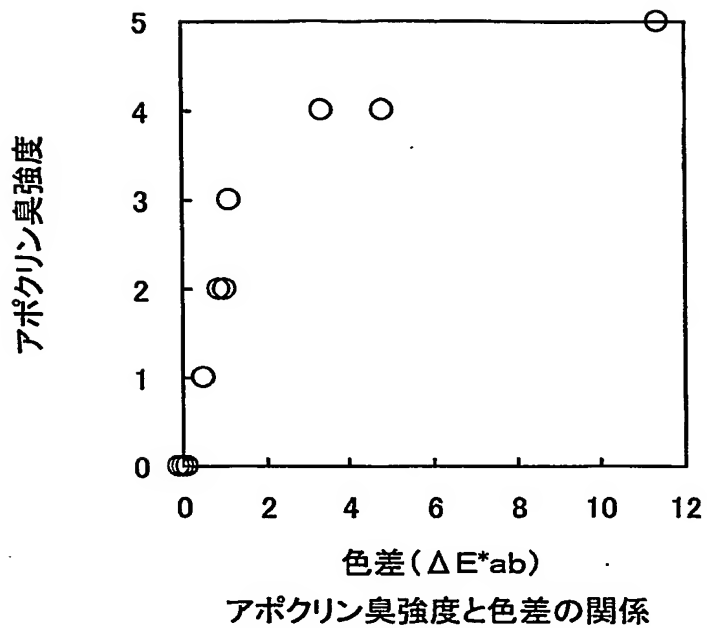
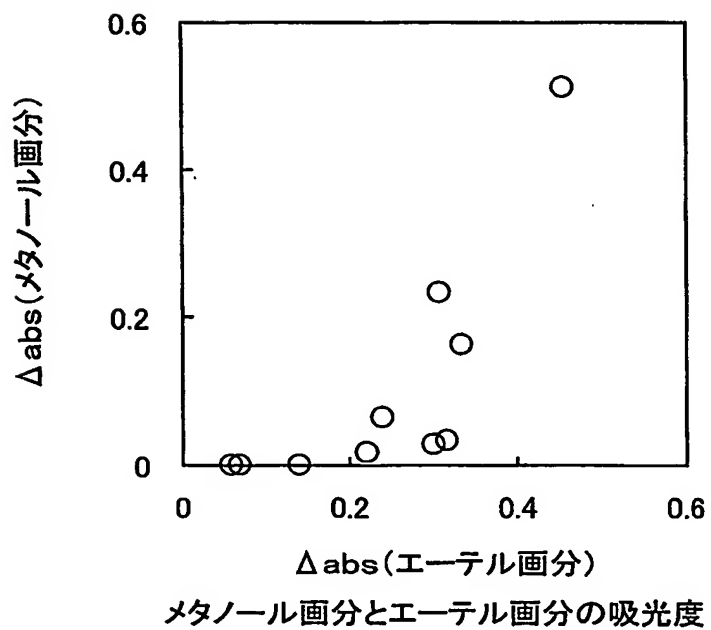


図12



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/12793

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ G01N33/497, G01N33/15, C11B9/00, A61K7/46

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ G01N33/497, G01N33/15, C11B9/00, A61K7/46

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2003
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2003	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2003

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAS ON-Line, JOIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Chenhui Zeng, A human axillary odorant is Carried by Apolipoprotein D, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, <u>Vol.93</u> , pages 6626 to 6630, 25 June, 1996 (25.06.96)	1-33
A	P.J. Rennie, In-vitro and in-vivo studies of human axillary odour and cutaneous microflora, British Journal of Dermatology, <u>Vol.124</u> , pages 596 to 602, 18 December, 1991 (18.12.91)	1-33
P,X	Andreas Natsch, A Apecific Bacterial Aminoaxylase Cleaves Odorant Precursors Secretd in Human Axilla, The Journal of Biological Chemistry, Vol.278, No.8, pages 5718 to 5727, 21 February, 2003 (21.02.03)	1,2,8-10, 16-18

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
19 January, 2004 (19.01.04)Date of mailing of the international search report
03 February, 2004 (03.02.04)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ G01N 33/497 G01N 33/15 C11B 9/00 A61K 7/46

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ G01N 33/497 G01N 33/15 C11B 9/00 A61K 7/46

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1922-1996年
 日本国公開実用新案公報 1971-2003年
 日本国登録実用新案公報 1994-2003年
 日本国実用新案登録公報 1996-2003年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAS ON-Line JOIS

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	Chenhui Zeng, A human axillary odorant is Carried by Apolipoprotein D, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, <u>vol.93</u> , p.6626-6630, 1996.06.25	1-33
A	P.J.Rennie, In-vitro and in-vivo studies of human axillary odour and cutaneous microflora, British journal of Dermatology, <u>vol.124</u> , p.596-602, 1991.12.18	1-33

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

19.01.04

国際調査報告の発送日

02.02.2004

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

宮澤 浩



2J

9407

電話番号 03-3581-1101 内線 3251

C (続き) . 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
PX	Andreas Natsch, A Apecific Bacterial Aminoaxylase Cleaves Odorant Precursors Secreted in Human Axilla, The Journal of Biological Chemistry, vol.278, no.8, p.5718-5727, 2003.02.21	1, 2, 8-10, 16-18